



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM MICROBIOLOGIA APLICADA

Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO
MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES
SUPERFICIAIS E CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG

Belo Horizonte – Minas Gerais

2023

Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO
MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES
SUPERFICIAIS E CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS – MG**

Dissertação apresentada ao Curso de Microbiologia Aplicada - Mestrado Profissional do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Profª. Dra. Nalu Teixeira de Aguiar Peres
Coorientadora: Dra. Danielle Letícia da Silva

Belo Horizonte – Minas Gerais

2023

043 Saraiva e Alvarenga, Gislaine Tolentino.
Aperfeiçoamento dos procedimentos de diagnóstico micológico e o perfil epidemiológico dos agentes de micoses superficiais e cutâneas na cidade de Montes Claros – MG [manuscrito] / Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga. – 2023.
155 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Nalu Teixeira de Aguiar Peres. Coorientador: Danielle Letícia da Silva..
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

I. Microbiologia. 2. Dermatomicoses. 3. Arthrodermataceae. 4. Candidíase Cutânea. 5. Técnicas de Tipagem Micológica. 6. Epidemias. I. Peres, Nalu Teixeira de Aguiar. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA APLICADA
MESTRADO PROFISSIONAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALUNA: GISLAINE TOLENTINO SARAIVA E ALVARENGA

Nº matrícula: 2021694717

Curso de Pós-graduação em Microbiologia Aplicada- NÍVEL MESTRADO

Data da defesa de dissertação: 15 de dezembro de 2023.

Título: “Aperfeiçoamento dos procedimentos de diagnóstico micológico e o perfil epidemiológico dos agentes de micoses superficiais e cutâneas na cidade de Montes Claros – MG”

A Dissertação foi submetida à apreciação da banca examinadora que emitiu parecer favorável.

Dra. Rachel Basques Caligiome

Aprovada:

Examinadora

Prof. Gustavo José Cota Freitas

Aprovada:

Examinador

Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres, ICB-UFMG

Aprovada:

Orientadora

Erna Geessien Kron

Coordenadora



Documento assinado eletronicamente por Nalu Teixeira de Aguiar Peres, Professora do Magistério Superior, em 15/12/2023, às 16:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gustavo José Cota de Freitas, Usuário Externo, em 20/12/2023, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Erna Geessien Kron, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 20/12/2023, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Rachel Basques Caligiome, Usuário Externo, em 21/12/2023, às 22:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2907042 e o código CRC D5665490.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA APLICADA
MESTRADO PROFISSIONAL

**ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL
DE GISLAINE TOLENTINO SARAIVA E ALVARENGA**

Nº REGISTRO 202169471

Às 14:00 horas do dia 14 de dezembro de 2023, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia da UFMG, de forma online na plataforma Teams, a Comissão Examinadora composta pela Profa Rachel Basques Caligiorne – Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, Prof. Gustavo José Cota Freitas - ICB/UFMG e a orientadora deste Curso Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres, ICB-UFMG, para julgar o trabalho final “Aperfeiçoamento dos procedimentos de diagnóstico micológico e o perfil epidemiológico dos agentes de micoses superficiais e cutâneas na cidade de Montes Claros – MG” da candidata, GISLAINE TOLENTINO SARAIVA E ALVARENGA, requisito final para obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA. Abrindo a sessão, a Profa. Erna Geessien Kroon, coordenadora do Curso, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares, passou a palavra a candidata, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Em seguida, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata, e do público, para julgamento e expedição de resultado final. A candidata foi considerada APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte 14 de dezembro de 2023.

Profa. Rachel Basques Caligiorne

Prof. Gustavo José Cota Freitas

Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres

Erna Geessien Kroon

Coordenadora



Documento assinado eletronicamente por **Nalu Teixeira de Aguiar Peres, Professora do Magistério Superior**, em 15/12/2023, às 16:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo José Cota de Freitas, Usuário Externo**, em 20/12/2023, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Erna Geessien Kroon, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 20/12/2023, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rachel Basques Caligiorme, Usuário Externo**, em 21/12/2023, às 22:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2906899 e o código CRC 387C70C7.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus!

Agradeço à minha família, meu esposo e especialmente aos meus filhos Ana e Arthur pela paciência e entendimento do momento.

Agradeço ao Laboratório Santa Clara (LSC), Dr Jayme aqui representando a diretoria, por me permitir realizar esse estudo e aos profissionais da coleta e atendimento, obrigada pela contribuição.

Aos colegas do setor de Microbiologia/Micologia agradeço pela parceria, pelo profissionalismo e amizade! Bia e Everson, sem vocês teria sido muito mais difícil!

Agradeço à UFMG que me proporcionou inúmeros conhecimentos, ao professor Daniele Profa. Danielle pela contribuição com o trabalho e à minha orientadora Nalu pelo conhecimento e pela sabedoria com que harmoniza o Laboratório de Micologia,

Às doutorandas Vanessa, Geislane e Queila que me ensinaram, meu mais profundo agradecimento e respeito,

E a todos os pacientes participantes da pesquisa, meu muito obrigada!

RESUMO

As infecções fúngicas são doenças negligenciadas, apresentando diversos desafios em relação ao diagnóstico, principalmente pela falta de capacitação dos laboratórios e dos profissionais de saúde. Isso leva à subnotificação dos casos e ao tratamento empírico que pode diminuir a qualidade de vida dos pacientes e levar à seleção de linhagens resistentes aos medicamentos comumente utilizados na clínica dermatológica. As micoses cutâneas são infecções fúngicas que acometem um percentual significativo da população mundial com manifestações na pele, pelo e unha, podendo ser causadas por fungos filamentosos e leveduras. Entre os fungos filamentosos, os dermatófitos são responsáveis por 25% das infecções seguidos pelas leveduras do gênero *Candida*. As micoses de unha e pele são as infecções que ocorrem com maior frequência, entretanto, a prevalência dessas infecções é variável e depende de parâmetros associados ao indivíduo e ao fungo, de suas interações mútuas e de fatores epidemiológicos e geográficos. Humanos de qualquer idade e ambos os sexos podem ser afetados pelas dermatomicoses constituindo este um importante problema de saúde pública. O objetivo do presente trabalho foi atualizar e aperfeiçoar as etapas do diagnóstico laboratorial dos exames micológicos, da coleta ao isolamento e identificação dos agentes etiológicos causadores das micoses cutâneas, no Laboratório Santa Clara (LSC) em Montes Claros, MG. Todos os parâmetros estabelecidos e reconhecidos de qualidade na área de Micologia Clínica foram revisados e adotados. Essa abordagem permitiu otimizar os procedimentos laboratoriais de microscopia e cultura em meios de cultivo específicos e implementar metodologias para determinar o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos mais utilizados na clínica dermatológica pela técnica de microdiluição em caldo e de acordo com os documentos M38-A e M27-A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), respectivamente, para os fungos filamentosos e leveduras. Além disso, foi possível correlacionar a etiologia das infecções com fatores relacionados ao indivíduo, como a presença de comorbidades, ocupação, convívio com animais de estimação, uso de medicamentos e tabagismo. Dessa forma, a otimização e a atualização das metodologias de diagnóstico micológico permitiram a correta identificação do agente causador. Foram analisadas amostras de 83 pacientes, com predomínio de mulheres, representando 65,06%. Dos 132 exames micológicos realizados, 68,18% foram positivos, entre as 112 culturas, atingimos 67,85% de positividade e o trabalho mostrou que as onicomicoses foram as principais manifestações clínicas, sendo os raspados subungueais dos Halux direito e esquerdo, os locais de maior acometimento, representando 59,39%. Além disso, *Trichophyton rubrum* foi o agente etiológico mais prevalente seguido de *Trichophyton mentagrophytes* e *Candida parapsilosis*. Os isolados de dermatófitos e leveduras, testados nesse estudo, foram susceptíveis ao Itraconazol, Fluconazol, Terbinafina ou Nistatina. Portanto, esse estudo fornece

informações relevantes sobre a epidemiologia das dermatomicoses que podem ser úteis na promoção de estratégias terapêuticas adequadas que possam evitar o surgimento da resistência fúngica, e proporciona ao profissional médico importante ferramenta de diagnóstico para auxílio no tratamento dos seus pacientes, contribuindo dessa forma para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes da cidade de Montes Claros.

Palavras-Chave: micoses cutâneas, dermatófitos, *Candida* spp., diagnóstico micológico, epidemiologia.

ABSTRACT

Fungal infections are neglected diseases, presenting several challenges in relation to diagnosis, mainly due to the lack of training in laboratories and health professionals. This leads to underreporting of cases and empirical treatment that can reduce patients' quality of life and lead to the selection of strains resistant to drugs commonly used in dermatological clinics. Cutaneous mycoses are fungal infections that affect a significant percentage of the world's population, affecting the skin, hair, and nails, and are caused by filamentous fungi and yeasts. Among filamentous fungi, dermatophytes are responsible for 25% of infections, followed by yeasts of the genus *Candida*. Mycoses of the nails and skin are the infections that occur most frequently; however, the prevalence of these infections is variable and depends on parameters associated with the individual and the fungus, their mutual interactions, and epidemiological and geographic factors. Humans of any age and both sexes can be affected by dermatomycoses, making this an important public health problem. The objective of this work was to update and improve the stages of laboratory diagnosis of mycological examinations, from collection to isolation and identification of the etiological agents causing cutaneous mycoses, at the Santa Clara Laboratory (LSC) in Montes Claros, MG. All established and recognized quality parameters in the Clinical Mycology field were reviewed and adopted. This approach made it possible to optimize laboratory microscopy and culture procedures in specific culture media and implement methodologies to determine the susceptibility profile to the most used antifungals in dermatological clinics through the broth microdilution technique and in accordance with documents M38-A and M27-A2 from the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), respectively, for filamentous fungi and yeast. Furthermore, it was possible to correlate the etiology of infections with factors related to the individual, such as the presence of comorbidities, occupation, living with pets, use of medications and smoking. Therefore, the optimization and updating of mycological diagnostic methodologies allowed the correct identification of the causative agent. Samples from 83 patients were analyzed, with a predominance of women, representing 65.06%. Of the 132 mycological exams carried out, 68.18% were positive, among the 112 cultures, we reached 67.85% positivity and the work showed that onychomycoses were the main clinical manifestations, with subungual scrapings from the right and left Halux being the sites most affected, representing 59.39%. Furthermore, *Trichophyton rubrum* was the most prevalent etiological agent followed by *Trichophyton mentagrophytes* and *Candida*

parapsilosis. The dermatophytes and yeasts isolates, tested in this study were susceptible to Itraconazole, Fluconazole, Terbinafine or Nystatin. Therefore, this study provides relevant information on the epidemiology of dermatomycosis that can be useful

in promoting appropriate therapeutic strategies that can prevent the emergence of fungal resistance and provides medical professionals with an important diagnostic tool to aid in the treatment of their patients, thus contributing to improving the quality of life of patients in the city of Montes Claros.

Keywords: cutaneous mycoses, dermatophytes, *Candida* spp., mycological diagnosis, epidemiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Kit para coleta de exames micológicos no LSC.	32
Figura 2. Procedimentos de cultura (A) e exame com KOH 40%	33
Figura 3. Colônias do dermatófito <i>Trichophyton spp.</i> cultivado a 28 °C, da levedura <i>C. albicans</i> a 37 °C, e do fungo filamentosos não dermatófito <i>Aspergillus spp.</i> a 28 °C, em meio ASD.	35
Figura 4. Colônias do dermatófito <i>Trichophyton rubrum</i> em ASD cultivado a 28 °C por 15 dias, em placa de Petri e tubos mostrando colônias cotonosas brancas no anverso e a formação de pigmento vermelho no reverso da colônia.	36
Figura 5. Análise macro e microscópica do dermatófito <i>M. canis</i> , cultivado em ASD por 15 dias a 28 °C.	37
Figura 6. Análise macro e microscópica do fungo filamentosos não dermatófito <i>Fusarium spp.</i> , cultivado em ASD por 15 dias a 28 °C.	37
Figura 7. Identificação de <i>Candida</i> por microcultivo em ágar fubá e formação de tubo germinativo de <i>C. albicans</i> demonstrando clamidoconídios e formação de tubo germinativo de <i>C. albicans</i> em soro humano após 2 horas a 37 °C	38
Figura 8. Agar cromogênico <i>Candida</i> , demonstrando os controles de <i>C. albicans</i> ATCC 10331 com colônia verde, <i>C. parapsilosis</i> 22019 com colônia rosa, e os diferentes isolados de pacientes e resultado da identificação por MALDI-TOF MS	39
Figura 9. Esquema do preparo das placas do teste de suscetibilidade por microdiluição	41
Figura 10. Cultivo de levedura em ASD e placa do teste de CIM da Nistatina para <i>Candida</i>	42
Figura 11. Cultivo de <i>T. rubrum</i> em ASD por 14 dias a 28 °C e filtração em lã de vidro da suspensão para obtenção dos conídios.	43
Figura 12. Câmara de Neubauer	44
Figura 13. Concentração inibitória mínima (CIM) para dermatófitos. Placa da microdiluição em RPMI e leitura da CIM em espectrofotômetro (ELISA Multiscan spectrum a 600 nm).	45
Figura 14. Distribuição do percentual de pacientes em relação ao sexo.	50
Figura 15. Distribuição do número de amostras de acordo com o sítio anatômico.	52
Figura 16. Percentual de distribuição dos agentes causadores de dermatomicoses no LSC.	54
Figura 17. Comorbidades e outros fatores predisponentes de micoses.	59
Figura 18. Onicomicose por <i>Trichophyton rubrum</i> em paciente diabético e com psoríase.	60
Figura 19. Percentual de pacientes com convivência com animais.	61
Figura 20. Medicamentos tópicos ou sistêmicos usados pelos pacientes antes da realização dos exames.	62
Figura 21. Perfil de melhora clínica em resposta ao tratamento prescrito pelo médico.	63
Figura 22. Tinea ungueum por <i>Trichophyton mentagrophytes</i> antes do tratamento prescrito pelo médico com Terbinafina em associação com Loceryl esmalte nas unhas e melhora clínica após 45 dias de tratamento	64
Figura 23. Tinea pedis por <i>Trichophyton rubrum</i> antes e após o tratamento com Terbinafina	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Solvente e intervalo de concentração avaliada para os antifúngicos utilizados	40
Tabela 2. Perfil etário dos pacientes.	51
Tabela 3. Distribuição das dermatomicoses de acordo com idade e sexo.	51
Tabela 4. Variáveis dos resultados dos exames micológicos diretos.	53
Tabela 5. Sítios anatômicos e frequência de espécies isoladas em cultura.	55
Tabela 6. Associação de cada resultado da cultura fúngica em relação ao sexo.	57
Tabela 7. Frequência de dermatomicoses	58
Tabela 8. Tempo da lesão.	61
Tabela 9. Associação entre o uso dos medicamentos e melhora do quadro clínico.	66
Tabela 10. Distribuição dos valores de CIM do Fluconazol, Itraconazol e Terbinafina pelo método de microdiluição em caldo para determinação da sensibilidade pelo Clinical Laboratory Standard Institute (Norma M38-A), para fungos dermatófitos.	67
Tabela 11. Distribuição dos valores de CIM do Fluconazol, Itraconazol e Nistatina pelo método de microdiluição em caldo para determinação da sensibilidade de Leveduras pelo Clinical Laboratory Standard Institute (Norma M27-A2) para leveduras.	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASD: Agar Sabouraud Dextrose

ABD: Agar Batata Dextrose

AFST: Teste de sensibilidade aos Antifúngicos

CF: Cultura para Fungos

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CIM: Concentração Inibitória Mínima

EMD: Exame Micológico Direto

FFND: Fungos Filamentosos Não Dermatófitos

ICB: Instituto de Ciências Biológicas

LSC: Laboratório Santa Clara

POP: Procedimento Operacional Padrão

TALE: Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCUD: Termo de Compromisso de Utilização de Dados

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. JUSTIFICATIVA	27
3. OBJETIVOS	28
OBJETIVO GERAL	28
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4. METODOLOGIA	30
Área em estudo	30
Coleta e obtenção das amostras	31
Procedimento Técnico	33
Exame Micológico Direto	33
Cultura para Fungos	34
Isolamento e identificação dos Fungos	36
Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	39
Coleta de dados	45
Análise estatística dos resultados	45
Considerações éticas	45
Riscos	46
Benefícios	48
5. RESULTADOS	48
6. DISCUSSÃO	69
7. CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	86

1. INTRODUÇÃO

Todo ser humano convive com a possibilidade de ser acometido por doenças fúngicas ao longo de sua vida. Estas doenças, denominadas de micoses, são classificadas conforme sua localização, no corpo humano, em superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas. As micoses superficiais e cutâneas são semelhantes na forma de transmissão, entretanto, nas micoses superficiais os fungos se aderem à camada superficial da pele ou pelo e nas micoses cutâneas se fixam no extrato córneo da pele, pelos e unhas assimilando a queratina (MEZZARI *et al.*, 2017). Também chamada de dermatomicose, a micose cutânea é a forma mais frequente de micose e afeta aproximadamente 25% da população mundial (MARTINEZ-ROSSI *et al.*, 2021). Fungos dermatófitos têm sido descritos como os principais agentes etiológicos das dermatomicoses, seguidos por leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos (SANGUINO; JARROS; NEGRI, 2019)

Classicamente, os dermatófitos são agrupados em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. No entanto, um estudo recente usando sequenciamento multilocus incluiu mais seis gêneros: *Arthroderma*, *Nannizzia*, *Ctenomyces*, *Lophophyton*, *Guarromyces* e *Paraphyton* (DE HOOG *et al.*, 2017). Os dermatófitos podem ser classificados em três grupos com base em seu habitat: antropofílicos (infectam humanos), zoofílicos (infectam animais) e geofílicos (vivem no meio ambiente) (MOSKALUK; VANDEWOUDE, 2022). As espécies antropofílicas colonizam naturalmente os seres humanos, sendo transmitidas entre humanos e geralmente causam infecções crônicas, leves, não inflamatórias e muitas vezes atingindo proporções epidêmicas. As espécies zoofílicas vivem em estreita associação com outros animais que não os humanos e a transmissão aos humanos geralmente ocorre por meio de seus reservatórios. Os fungos ocorrem na pele de determinados animais hospedeiros, de forma sintomática ou assintomática, e podem se tornar epidêmicos. Os dermatófitos geofílicos têm seu reservatório no solo ao redor de tocas de mamíferos terrestres específicos, alimentando-

se de detritos queratinosos. Eles podem ser carregados por esses animais em suas peles, portanto, a diferença entre dermatófitos geofílicos e zoofílicos nem sempre é nítida. Quando transmitidas aos humanos, as espécies zoofílicas e geofílicas causam micoses inflamatórias agudas. Ocasionalmente, humanos infectados por zoofílicos permanecem contagiosos, levando a surtos pequenos e autolimitados, enquanto a maioria das infecções por geofílicos são rapidamente resolvidas (DE HOOG *et al.*, 2017). Os dermatófitos são de vida livre no ambiente, mas sob certas condições podem causar infecções em humanos e animais. Esses fungos são filamentosos, septados e hialinos, e podem produzir esporos assexuados (macro e/ou microconídios). As estruturas do micélio são formadas a partir da fusão e extensão de estruturas tubulares fúngicas conhecidas como hifas. O micélio desempenha as funções fisiológicas de absorção de nutrientes, geração de esporos e detecção ambiental de luz e temperatura. Diferentes tipos de conídios são formados dependendo da espécie de dermatófito e das condições ambientais. Por exemplo, esporos assexuados podem se formar como macroconídios (grandes conídios multiseptados), microconídios (pequenos conídios unicelulares) e artroconídios (fragmentos infecciosos de hifas) (MOSKALUK; VANDEWOUDE, 2022). O início de uma infecção por dermatófitos começa quando os artroconídios aderem a tecidos queratinizados. Os artroconídios primeiro aderem à epiderme dentro de 2 a 6 h após o contato e começam a germinar no estrato córneo. À medida que os artroconídios começam a germinar, esses esporos desenvolvem tubos germinativos que podem penetrar na primeira camada da epiderme, o estrato córneo. O pH no local da infecção torna-se alcalino à medida que o dermatófito degrada a queratina, auxiliando na atividade das proteases fúngicas que agem nesse pH (PERES, *et al.*, 2010). As hifas fúngicas continuam a crescer e invadem tecidos queratinizados e começam a produzir artroconídios dentro de 7 dias após a infecção, permitindo que o fungo se espalhe para outras localizações anatômicas do hospedeiro original, para outros hospedeiros ou para contaminar o ambiente (MOSKALUK; VANDEWOUDE, 2022). Os

dermatófitos podem afetar várias partes do corpo, e tendem a crescer em um padrão externo na pele, produzindo uma lesão semelhante a um anel – daí o termo *ringworm*. As lesões são classificadas clinicamente de acordo com o local da infecção da seguinte forma: tinea pedis para os pés (popularmente denominada de pé de atleta), tinea capitis para o couro cabeludo, tinea manuum para as mãos, onicomicose ou tinea unguium para as unhas, tinea barbae para a área da barba e tinea corporis para o corpo, incluindo braços e tronco (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). As manifestações clínicas incluem lesões circulares, eritematosas e escamosas na pele, enquanto infecções ungueais (tinea unguium ou onicomicose) levam à descoloração, espessamento, descamação e separação do leito ungueal (MARTINEZ-ROSSI, *et al.*, 2021).

A onicomicose é uma infecção da unidade ungueal causada por fungos (dermatófitos, fungos filamentosos não dermatófitos e leveduras), apresentando-se com descoloração da unha, onicólise e espessamento da placa ungueal. Qualquer componente da unidade ungueal, incluindo placa, matriz e leito, pode ser afetado. O termo “onicomicose” é derivado das palavras gregas “*ónix*” que significa unha e “*mykes*” que significa fungo. A onicomicose é o distúrbio mais comum que afeta a unidade ungueal e é responsável por pelo menos 50% de todas as doenças ungueais (LEUNG *et al.*, 2020.). A onicomicose pode servir como um reservatório para infecções fúngicas cutâneas, como tinea pedis, tinea corporis e tinea cruris. O fungo também pode se disseminar para outras unhas, além de existir risco elevado de infecções bacterianas, como celulite e paroníquia, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, incluindo diabéticos (LEUNG *et al.*, 2020). Algumas condições são necessárias para o estabelecimento dessa infecção fúngica no paciente, incluindo estado imunológico, obesidade, diabetes e idade avançada, além de outros problemas de saúde. Fatores ambientais e predisposição genética também estão relacionados a esta doença (PETRUCCELLI *et al.*, 2020). A onicomicose grave pode interferir na postura em pé, na marcha, na função das unhas e nas

atividades diárias. A condição, se não tratada, pode causar desconforto, dor, parestesia, deformidades nas unhas, como sobrecurvatura transversal, dificuldades em aparar lâminas ungueais espessas, dificuldades em calçar sapatos e baixa auto-estima. Além disso, a onicomicose pode ser desagradável e socialmente embaraçosa (especialmente para mulheres) e pode ter um efeito adverso na qualidade de vida (LEUNG *et al.*, 2020).

A prevalência global na população em geral é de 5,5%, o que pode variar dependendo da heterogeneidade da população avaliada. Estudos recentes sobre infecções fúngicas cutâneas identificaram a onicomicose como tendo a maior prevalência entre as dermatofitoses, variando de 3,0% a 82,9% (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). Uma revisão sistemática relatou uma prevalência média de 4,3% em estudos de base populacional na Europa e na América do Norte, enquanto estudos de base hospitalar mostraram uma prevalência média de 8,9% (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). Dermatófitos são os agentes mais comumente isolados no mundo, responsáveis por 60% a 70% dos casos. *T. rubrum* é a espécie predominante, representando aproximadamente 50% ou mais, seguida por *T. mentagrophytes* e *T. interdigitale*. Os não dermatófitos são globalmente reconhecidos como agentes causadores, com sua prevalência variando de 0,8% a 65,8%. No Brasil, Sri Lanka e Tailândia, fungos filamentosos não-dermatófitos foram detectados em 51,6% a 68,2% dos casos. Em contraste, a Europa relata uma prevalência mais baixa, variando de 4% a 7% (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). Nos países da Ásia e do Oriente Médio, os dermatófitos representam 40 a 48% dos casos, sendo 43 a 46% das infecções causadas por leveduras e 8 a 11% por fungos não dermatófitos. Comparativamente, na África, as infecções relacionadas à onicomicose são predominantemente causadas por leveduras (PETRUCCELLI *et al.*, 2020). A frequência das dermatofitoses é maior em países tropicais devido às altas temperaturas e umidade. Fatores que influenciam o desenvolvimento de dermatofitoses incluem idade, sexo, estação do ano, condições

socioeconômicas e culturais e localização geográfica. Estima-se que cerca de 10 a 15% dos indivíduos sejam contaminados por dermatófitos em algum momento de sua vida (PETRUCELLI *et al.*, 2020).

Trichophyton rubrum emergiu como organismo predominante em todo o mundo, afetando Europa, América do Sul, Ásia e África. A incidência de infecção por *T. rubrum* aumentou significativamente desde o século 20, afetando predominantemente indivíduos com idade entre 20 e 60 anos, com tendência a infectar pacientes mais velhos nos anos mais recentes (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). *T. rubrum* é responsável por uma ampla gama de infecções fúngicas, incluindo tinea pedis, onicomicose, tinea cruris, tinea corporis e tinea manuum. As áreas mais comumente afetadas são os pés e as unhas dos pés. Vários fatores de risco contribuem para a infecção por *T. rubrum*, incluindo o uso de calçados oclusivos e condições climáticas quentes e úmidas, que são particularmente propícias à propagação da infecção durante o verão. Outros organismos causadores variam dependendo do local da infecção e de fatores regionais (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). A maioria das infecções apresenta distribuição geográfica distinta: *T. rubrum* apresenta distribuição mundial, sendo significativamente prevalente em países desenvolvidos da América do Norte, Europa, Austrália e Leste Asiático; *Microsporum canis* e *Trichophyton tonsurans* podem ser encontrados na maioria dos países europeus; *Trichophyton violaceum* é a espécie mais prevalente nos países do Oriente Médio, África Oriental e Sul da China; *Microsporum audouinii* e *Trichophyton soudanense* são endêmicos dos países da África Ocidental (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Na Índia, o uso indevido de esteróides tópicos pode ser a causa mais importante do atual surto de dermatofitose crônica e recalcitrante. Uma forte associação temporal foi observada entre a crescente disponibilidade e uso irracional de cremes combinados (antifúngico-esteróide ou antifúngico-antibiótico) com o aumento súbito de casos crônicos, recorrentes e refratários

nos últimos 4-5 anos. Os estudos mais recentes encontraram *T. mentagrophytes* em mais de 90% de seus isolados de dermatófitos (VERMA *et al.*, 2021). Vários estudos relataram que *T. mentagrophytes* ITS tipo VIII é mais comum na Índia e o segundo mais comum no Irã (RUDRAMURTHY *et al.*, 2023). O fungo recém-emergido *T. mentagrophytes* genótipo VIII, classificado como *T. indotineae*, frequentemente causa formas clínicas inflamatórias e pruriginosas de tinea cruris, tinea corporis e tinea facial difíceis de tratar. *T. indotineae* é morfologicamente indistinguível de *T. mentagrophytes* mas exibe um padrão de transmissão antropofílico em vez de zoofílico e um alto nível de resistência à terbinafina. Isso corresponde à detecção de uma ou mais mutações pontuais com substituições de aminoácidos na posição L393F ou F397L do gene da esqualeno epoxidase, alvo deste antifúngico. A droga de escolha para o tratamento da dermatofitose causada por esse patógeno é o itraconazol (UHRLASS *et al.*, 2022).

No Brasil, as infecções causadas por dermatófitos afetam entre 18,2 e 23,2% da população (BRITO *et al.*, 2023). Dados epidemiológicos mostram maior incidência de infecções por *T. rubrum* nas regiões sul e sudeste, seguido por *M. canis* e *T. mentagrophytes*. Por outro lado, uma maior prevalência de *T. tonsurans*, *T. rubrum* e *M. canis* é observada na região nordeste (PETRUCCELLI *et al.*, 2020). No Rio de Janeiro, as dermatofitoses foram mais comumente causadas por *T. rubrum*, seguido por *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *M. canis*, *Nannizzia gypsea* e *Epidermophyton floccosum* (BRITO *et al.*, 2023).

As manifestações clínicas das infecções por *Candida* spp. variam de infecções superficiais da pele e das mucosas, como a candidíase oral e vaginal, até infecções da corrente sanguínea e disseminadas com risco de vida que estão associadas à taxas de mortalidade acima de 40% (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020). A idade juvenil, antibioticoterapia de largo espectro, imunossupressão, doenças de base preexistentes e neutropenia se destacaram como as principais condições predisponentes ao surgimento da candidemia em paciente em

unidade de terapia intensiva (UTI) (CASTRO *et al.*, 2021). De todas as espécies de *Candida*, *C. albicans* domina quase todos os grupos de pacientes e manifestações de doenças em termos de incidência, seguida por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Trabalhos recentes do nosso grupo de pesquisa demonstraram que pacientes com COVID-19 apresentavam cultura positiva para *Candida* spp. isoladas de diferentes materiais biológicos (SINGULANI *et al.*, 2022), especialmente a candidúria foi causada por *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (SINGULANI *et al.*, 2023).

É pertinente mencionar aqui que houve uma mudança considerável na distribuição de espécies nos últimos anos, dependendo da localização geográfica e da população de pacientes avaliada, com diminuição na proporção de *C. albicans* e aumento de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e outras espécies de *Candida* não-*albicans* (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020). *C. albicans* é responsável por aproximadamente 70% das onicomicoses causada por leveduras. Outras espécies de *Candida* incluem *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis* (LEUNG *et al.*, 2020.). A espécie recém-identificada *Candida auris* que tem se espalhado pelo mundo é um fungo do filo Ascomycota, oportunista e multirresistente, que foi primeiramente identificado no Japão, em 2009. Recebeu o nome *C. auris* (do latim) por se tratar de um isolado de secreção auricular. Pacientes com condições clínicas como câncer e diabetes, história recente de cirurgia abdominal, presença de cateteres venosos centrais e exposição recente a antibióticos, têm um maior risco de serem infectados (MACHADO; DALMOLIN; BRANDÃO, 2021). *C. auris* parece ter uma predileção especial pela pele, e os pacientes podem permanecer colonizados por muito tempo, além deste microrganismo persistir em superfícies em ambientes de saúde. Isso pode resultar na disseminação do fungo entre pacientes no ambiente hospitalar. Os profissionais de saúde apresentam papel fundamental na transmissão entre pacientes internados, principalmente com higienização inadequada das mãos e por meio do manuseio e uso de equipamentos contaminados. *C. auris* pode ser encontrado em superfícies

horizontais como o piso ao redor dos leitos, carrinhos, radiadores, peitoris de janelas, monitores de equipamentos e teclados, e também em amostras de ar. Uma das grandes preocupações relacionadas à *C. auris* é a multirresistência às principais classes de antimicrobianos usados no tratamento de fungemias (MACHADO; DALMOLIN; BRANDÃO, 2021). Observa-se uma capacidade reduzida dos isolados de responder ao fluconazol, anfotericina B e equinocandinas (anidulafungina, caspofungina, micafungina). A susceptibilidade reduzida aos antifúngicos é um dos fenótipos mais preocupantes e tem levado à procura de novas terapias para *C. auris*. Um dos mecanismos celulares que sustentam tais fenótipos é a ocorrência de mutações em genes-alvo relacionados à resistência (MARTINS-SANTANA *et al.*, 2023). Por exemplo, mutações em genes relacionados à biossíntese de ergosterol, como *erg11*, resultam em substituições de aminoácidos em proteínas alvo que podem gerar resistência em isolados desse patógeno. Além disso, mutações em genes que participam da síntese de glucanos, como *fks1*, foram identificadas em cepas de *C. auris* resistentes à equinocandina. Além disso, análises de transcriptoma tem identificado genes envolvidos na resposta ao estresse causado pela presença de caspofungina e anfotericina B, como detectaram a regulação positiva de um longo RNA não codificante conhecido como DINOR em *C. auris* (MARTINS-SANTANA *et al.*, 2023).

Estudos demonstraram que *C. auris* é comumente identificada erroneamente como outras leveduras em painéis bioquímicos como o VITEK, API *Candida* e Microscan, geralmente confundido e identificado como *C. haemulonii*, *C. famata*, *C. guilliermondii* e *C. sake*. A identificação adequada de *C. auris* pode ser obtida pelo refinado método de diagnóstico empregando MALDI -TOF ou o sequenciamento de DNA, ambas com limitações de aplicação no Brasil. Além disso, é importante reforçar que os laboratórios que utilizam MALDI-TOF devem confirmar com o fabricante se *C. auris* está incluído e validado no banco de dados consultado (MACHADO; DALMOLIN; BRANDÃO, 2021).

Os fungos não dermatofíticos que podem causar onicomicose incluem espécies de

Aspergillus, *Scopulariopsis*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Syncephalastrum*, *Scytalidium*, *Paecilomyces*, *Neoscytalidium*, *Chaetomium*, *Onychocola* e espécies de *Alternaria*. Os fungos não dermatófitos representam aproximadamente 10% dos casos de onicomicose globalmente (LEUNG *et al.*, 2020.).

A pitiríase versicolor, ou tinea versicolor, é uma micose superficial comum em todo o mundo. A maioria dos casos é relatada em locais quentes e úmidos. A doença é causada por uma levedura comensal que ocorre naturalmente na microbiota da pele. Embora 14 espécies de *Malassezia* tenham sido identificadas, apenas *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa* e *Malassezia sympodialis* foram isoladas de lesões cutâneas em humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2023). Os fatores de risco para o desenvolvimento da pitiríase versicolor incluem pele oleosa, alterações hormonais devido à puberdade e gravidez, imunodeficiências, aspectos comportamentais (aplicação de loções e cremes oleosos, transpiração excessiva) e condições ambientais (clima quente e úmido). Os sinais e sintomas mais comuns incluem máculas hiperpigmentadas ou hipopigmentadas, prurido e descamação, afetando principalmente locais do corpo, como tronco, pescoço e extremidades proximais. O diagnóstico geralmente é baseado no exame clínico. Os testes de laboratório são realizados para estudos epidemiológicos ou casos clínicos complexos (exame microscópico de raspados de pele das áreas infectadas e cultura). O tratamento inclui o uso de medicamentos tópicos (agentes azólicos, piritionato de zinco, sulfeto de selênio, enxofre associado ao ácido salicílico) e, ocasionalmente, antifúngicos orais (itraconazol, fluconazol) (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Testes laboratoriais são frequentemente necessários para detectar a presença de elementos fúngicos, com exame microscópico direto de raspados de pele, unhas ou cabelos, usando diferentes corantes após clarificação com hidróxido de potássio. Embora o isolamento e a identificação de dermatófitos a partir de uma amostra clínica cultivada em cultura continue sendo o “padrão ouro” para o diagnóstico de dermatofitose, várias técnicas moleculares (por

exemplo, reação em cadeia da polimerase do DNA – PCR) prometem um diagnóstico rápido e sensível (OLIVEIRA *et al.*, 2023). O teste de PCR permite a amplificação rápida e altamente específica de fragmentos de DNA de fungos. A técnica de PCR pode identificar com precisão o dermatófito causal. Além disso, os resultados estão disponíveis rapidamente (dias em vez de semanas). No entanto, os ensaios de PCR são caros e não estão amplamente disponíveis, o que limita seu uso na prática geral (LEUNG *et al.*, 2020). Em contrapartida, as culturas em meios específicos são úteis para identificar as espécies fúngicas, fornecem informações sobre a viabilidade fúngica e guiam a terapia (LEUNG *et al.*, 2020).

Nas dermatofitoses, o isolamento e a identificação correta do agente causador são essenciais para a escolha do tratamento adequado. Por exemplo, infecções causadas por dermatófitos antropofílicos requerem tratamento mais curto do que aquelas causadas por espécies de dermatófitos zoofílicos. Por outro lado, espécies fúngicas não dermatofitas podem não responder adequadamente ao tratamento utilizado para dermatofitoses (PETRUCCELLI *et al.*, 2020).

Na prática laboratorial, comumente o diagnóstico das leveduras tem sido baseado no isolamento do fungo em cultura, como o CHROMagar *Candida*, usado como um meio seletivo e diferencial. Nos últimos anos, a identificação das espécies de *Candida* evoluiu de métodos convencionais baseados em bioquímica e realizados de forma manual para testes moleculares e baseados em proteínas e ácidos nucleicos automatizados, como MALDI-TOF MS, que tem revolucionado o diagnóstico dessa infecção, com tempo resposta menor do que três horas da identificação da espécie crítica de *Candida* (CASTRO *et al.*, 2021). Assim, as várias escolhas envolvidas na busca do diagnóstico de dermatofitose são determinadas pelas condições disponíveis e pelas facilidades do laboratório (BEGUM *et al.*, 2020).

O teste de suscetibilidade a antifúngicos (AFST) é usado para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de um determinado medicamento com o objetivo de

prever se um paciente responderá à terapia antifúngica padrão. A CIM é definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano que impede o crescimento ou o crescimento visível, conforme evidenciado pela turbidez (KHAN; HAY; SAUNTE, 2022).

Sabemos que as doenças dermatológicas são um desafio de saúde pública sendo negligenciadas, o que afeta desproporcionalmente ambientes com poucos recursos e estudos mostram que as infecções fúngicas podem representar cerca de 24,0% dos atendimentos em dermatologia (LEE *et al.*, 2022). Assim, conhecendo o perfil epidemiológico das micoses cutâneas e a suscetibilidade dos agentes fúngicos, esperamos contribuir para melhoria nas estratégias terapêuticas e incentivo à divulgação de medidas e recursos que minimizem esses impactos.

2. JUSTIFICATIVA

Qualquer doença crônica da pele tem um impacto psicológico e social significativo no paciente (SHENOY, Manjunath *et al.*, 2023). A suspeita de infecções fúngicas pode se iniciar pela história e aparência clínica e mesmo que muitas outras condições tais como eczemas, psoríase, infecções bacterianas, etc, possam se assemelhar às micoses torna-se muito importante o diagnóstico diferencial na realização das investigações laboratoriais a partir da anamnese médica. As micoses cutâneas, assim como as muitas doenças de pele, embora não associadas à mortalidade, causam desconforto e o prurido intenso devido às dermatofitoses, está associada a considerável morbidade e constrangimento social (PADHIYAR *et al.*, 2020).

Montes Claros é a maior cidade do norte do Estado de Minas Gerais e constitui hoje um importante polo em desenvolvimento aumentando a migração de diferentes camadas da população para a região, o que pode contribuir para as mudanças das tendências epidemiológicas.

Esse trabalho visou aperfeiçoar as metodologias de diagnóstico micológico do LSC em

Montes Claros, permitindo a capacitação de profissionais na área de micologia clínica e contribuindo para a melhoria do serviço prestado. Além disso, esse estudo possibilitou traçar o perfil epidemiológico atual das espécies fúngicas envolvidas como principais agentes etiológicos das dermatomicoses e, com os dados adquiridos, e em particular com as informações fornecidas pelos pacientes e médicos prescritores, foi possível estabelecer paralelos com a idade, gênero, ocupação, comorbidades tais como diabetes, doenças imunossupressoras, tabagismo, traumas, psoríase, entre outras informações, que podem ser úteis para o embasamento médico na escolha do tratamento adequado e auxílio na melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral.

Atualizar as etapas do diagnóstico laboratorial em Micologia e conhecer o perfil epidemiológico dos agentes causadores de micoses cutâneas em pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara, na cidade de Montes Claros-MG.

Objetivos específicos.

Revisar as técnicas laboratoriais de coleta das diferentes amostras clínicas, do cultivo e identificação das espécies fúngicas causadoras de micoses cutâneas.

Atualizar os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), implementar melhoria dos exames micológicos dentro dos parâmetros de qualidade no LSC e elaborar o Manual de Identificação dos Fungos do LSC.

Treinar equipes de coletas e colaboradores técnicos nas atualizações dos procedimentos operacionais.

Isolar e identificar os agentes de micoses cutâneas.

Determinar o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos fluconazol, itraconazol e terbinafina para os dermatófitos e o itraconazol, fluconazol e nistatina para as espécies de *Candida*.

Estabelecer o perfil epidemiológico das espécies e correlacionar com idade, gênero, ocupação, comorbidades tais como a diabetes, psoríase e outras condições pré- disponentes de infecções fúngicas.

Acompanhar a resposta clínica dos pacientes ao tratamento.

4. METODOLOGIA

Área de estudo.

Este projeto foi desenvolvido no Laboratório Santa Clara (LSC) e no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (ICB – UFMG), a partir da autorização do parecer consubstanciado do COEP (Comitê de Ética em Pesquisa – CAAE) (Anexo 1) em 16 de novembro de 2022. O LSC é o maior Laboratório de Análises Clínicas da região do Norte de Minas Gerais. Sua sede fica localizada na cidade de Montes Claros-MG onde possui um total de 17 unidades de atendimento além de unidades em outras dez cidades da região. Desde 2004 é certificado pela norma ABNT ISO NBR 9001 e possui procedimentos operacionais padronizados em todas as áreas, as pré-analíticas, as analíticas e pós-analíticas. Realiza em torno de 200.000 exames mensais nas áreas de Bioquímica, Hematologia, Imunossorologia, Parasitologia, Uroanálise e Microbiologia em atendimento ambulatorial e domiciliar. No setor de Microbiologia realizamos aproximadamente 6.000 exames/mês e os exames para diagnóstico micológico compreendem cerca de 10% desse total.

O exame micológico direto e a cultura de fungos em meios específicos são técnicas amplamente utilizadas nos Laboratórios de Micologia e os dados obtidos nessa pesquisa foram fundamentais para o estudo regional da epidemiologia das micoses cutâneas. Atualizamos os procedimentos operacionais relacionados nesse estudo, e realizamos treinamentos com os profissionais da coleta de amostras e do setor técnico de Microbiologia/Micologia cumprindo os objetivos de aprimorar o conhecimento técnico facilitando a abordagem de participação do paciente na pesquisa com o preenchimento adequado dos documentos criados para registro das informações e a assinatura dos termos de consentimento livre esclarecido (TCLE) e assentimento livres esclarecidos (TALE) usados especificamente em cada caso, além do termo de autorização para uso de imagens. Os dados resultantes desse estudo demonstraram os principais sítios acometidos pelas infecções fúngicas, seus agentes etiológicos mais frequentes,

a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antifúngicos da classe dos imidazólicos como o fluconazol e itraconazol para ambos os grupos de dermatófitos e fungos leveduriformes além da nistatina para as espécies de *Candida* e terbinafina apenas para os dermatófitos. Os antifúngicos citados são rotineiramente usados na clínica dermatológica, como mostra o resultado desse estudo que também apresenta a taxa de adesão e resposta clínica ao tratamento. As infecções fúngicas têm importante impacto na saúde e bem-estar dos pacientes e a determinação da CIM dos antifúngicos pode servir de orientação ao médico para uma valiosa correlação com os resultados clínicos obtidos em resposta ao tratamento antifúngico utilizado.

Coleta e obtenção das amostras.

Os pacientes são atendidos de acordo com a solicitação médica de exames e são cadastrados no sistema Autolac usado pelo LSC onde é gerado uma ficha de resultado (Anexo 2) com identificação numérica junto ao nome do paciente e o respectivo código de barras dos exames a serem realizados. As amostras da área de micologia são coletadas conforme procedimentos descritos no manual de coleta de amostras para exames micológicos (Anexo 3). Os raspados de pele são coletados por raspagem com lâminas e recolhidos em placas de Petri esterilizadas e descartáveis. As lesões pouco descamativas e/ou amostras apresentando secreções são recolhidas com auxílio de swab e depositadas em tubo com solução fisiológica esterelizada. Para a coleta das amostras das unhas que geralmente encontram-se espessadas utilizamos alicates de unhas devidamente esterilizados. Os fragmentos das unhas e raspados subungueais são recolhidos em placas de Petri, conforme mostra a Figura 1.



Figura 1. Kit para coleta de exames micológicos no LSC

No momento da coleta são registradas as características relevantes para o estudo baseados na observação visual da lesão pelo profissional da coleta. São descritas as observações sobre a aparência da lesão e o uso de medicamento tópico ou oral. Na entrevista com o paciente, perguntamos ainda sobre o tempo de acometimento da lesão, convivência com animais de estimação, uso do cigarro, comorbidades, etc, sendo essas informações registradas em questionário próprio, desenvolvido neste trabalho (Anexo 4). A execução do projeto no LSC ocorreu após autorização pelos órgãos responsáveis para a realização do estudo conforme mostra a declaração de chefia do LSC e os Termos de anuência da Instituição Coparticipante e declaração de Instituição Coparticipante (Anexos 5, 6 e 7), e após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Anexo1) e em Câmara do Departamento de Microbiologia da UFMG (Anexo 8).

No momento da coleta das amostras dos diferentes sítios anatômicos, os pacientes que se mostraram voluntários à participação na pesquisa assinaram os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Anexos 9 A, B, C e D). Os pacientes que declararam não participantes do projeto tiveram seus direitos respeitados e não sofreram nenhum prejuízo durante o atendimento ou

mesmo na realização dos exames. Os colaboradores e médicos participantes também assinaram os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específicos (Anexos 9 E, F).

Procedimento Técnico: Exame Micológico Direto, Cultura, Isolamento e Identificação das espécies fúngicas.

Exame Micológico Direto (EMD).

Após a coleta, as amostras foram transportadas ao setor de Microbiologia que faz a conferência da identificação e de outras informações pertinentes. A amostra é então dividida e partes são usadas para cultivo, conforme Figura 2A e o restante é deixado na placa de Petri para a realização do exame micológico direto (Figura 2B), e a amostra é tratada com solução de Hidróxido de Potássio (KOH) a 20 ou 40%, que degrada a queratina e permite a clarificação do material para melhor visualização das estruturas fúngicas por microscopia óptica direta em objetivas de 10X e 40X. O resultado do exame é registrado na ficha de bancada do paciente.

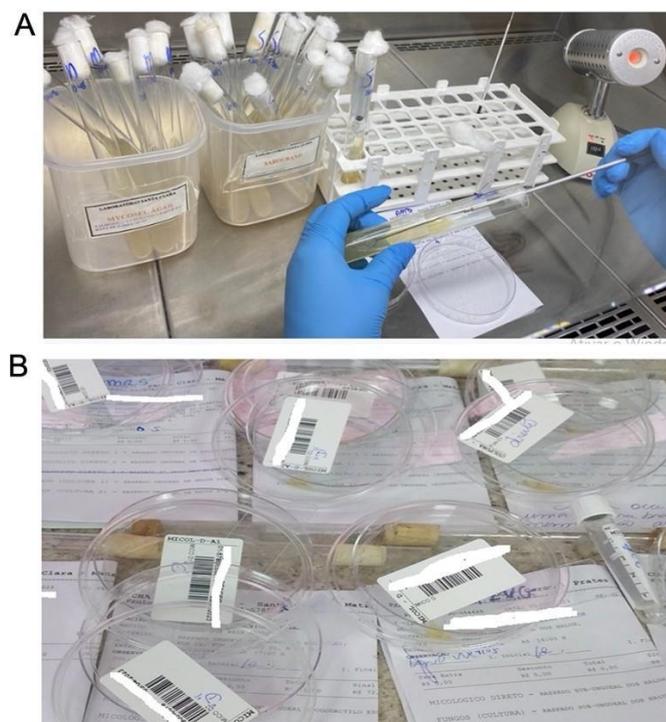


Figura 2. Procedimentos de cultura (A) e exame com KOH 40%, realizado no LSC.

Cultura para Fungos.

Para a realização da cultura para fungos, os meios de cultivo foram preparados no setor de Microbiologia/Micologia e em alguns momentos adquiridos comercialmente, em tubos, como o Ágar Sabouraud Dextrosado 4% (ASD) (Lote:3A22 Validade:16/02/2023) e o Ágar Mycosel (AM) (Lote:2B22 Validade:27/06/23), ambos da Mbiolog. A cultura permite o crescimento, isolamento e detecção dos agentes etiológicos e, na maioria dos casos, permite também a diferenciação das colônias de leveduras das de fungos filamentosos dermatófitos e não dermatófitos, conforme demonstrado na Figura 3. Com esta técnica, torna-se essencial utilizar uma combinação de dois diferentes meios de cultura uma vez que o ASD favorece o crescimento de todos os tipos de fungos e a cicloheximida e o cloranfenicol presentes no AM inibem, respectivamente, espécies fúngicas saprófitas e bactérias presentes nas amostras. No nosso serviço, os meios de cultura preparados e usados na pesquisa foram o Agar Sabouraud Dextrose (ASD) da Kasvi (Lote 204125 validade: 04/2025) e Agar Mycosel (AM) da Interlab (Lote 2060500 validade: 31/10/25). Os mesmos foram pesados e dissolvidos em água deionizada. Após completa dissolução foram distribuídos em alíquotas de 10 ml em tubos de ensaio e autoclavados por 15 minutos a 121 °C de acordo com a orientação do fabricante. O meio de cultura é esterilizado em autoclave e deixado solidificar levemente inclinado em tubos para facilitar o cultivo das amostras biológicas e a visualização das colônias formadas.

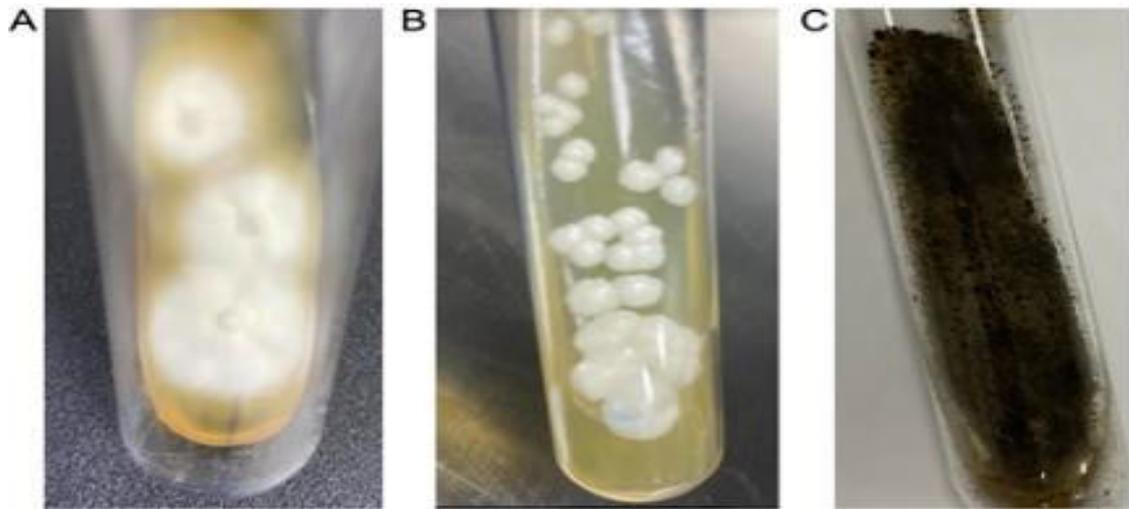


Figura 3. Colônias do dermatófito *Trichophyton spp.* (A) cultivado a 28 °C, da levedura *C. albicans* (B) a 37 °C, e do fungo filamentoso não dermatófito *Aspergillus spp.* (C) a 28 °C, em meio ASD.

Para esse trabalho, realizamos concomitantemente a distribuição do meio de cultura ASD em placas de Petri esterilizadas para facilitar o isolamento e estudo das colônias, realização de microcultivos e de suspensão fúngica usada para contagem de conídios em câmara de Neubauer para a execução da determinação da CIM pela técnica de microdiluição em caldo (Figura 4). Também cultivamos as colônias de leveduras no meio de Agar Fubá (*Corn Meal Agar*), Himedia para análise da produção de clamidósporos por *Candida albicans*. As amostras cultivadas foram incubadas a 35 °C.

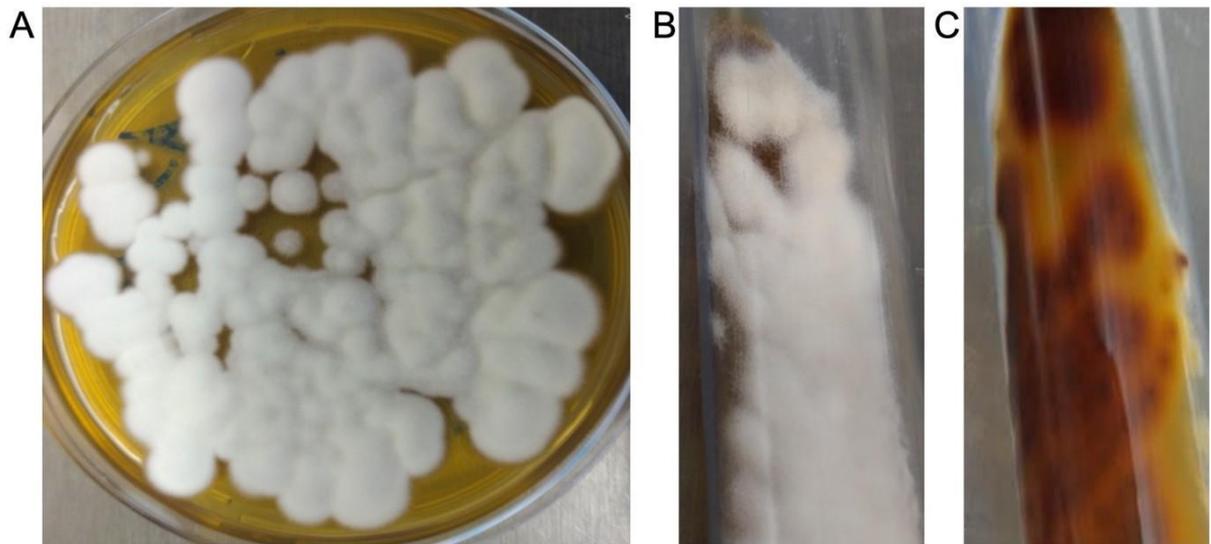


Figura 4. Colônias do dermatófito *Trichophyton rubrum* em ASD cultivado a 28 °C por 15 dias, em placa de Petri(A) e tubos mostrando colônias cotonosas brancas no anverso (B) e a formação de pigmento vermelho no reverso da colônia (C).

Isolamento e Identificação de Fungos.

Os tubos e placas de cultura foram observados rotineiramente uma ou duas vezes na semana para verificação do crescimento fúngico nos meios de culturas. As leveduras crescem rapidamente permitindo a visualização das colônias a partir de 48 – 72 horas. Os dermatófitos crescem lentamente e a maioria dos isolados teve seu crescimento em torno de 15 a 20 dias. A identificação de todos os fungos dermatófitos, fungos filamentosos não dermatófitos e leveduras foram baseados na análise macromorfológica das colônias e nas características microscópicas, como demonstradas nas Figuras 5 e 6. Na análise macroscópica das colônias foi observado o aspecto, a textura, a pigmentação e a coloração da colônia (verso) e também do anverso da colônia. A análise microscópica é realizada fazendo a raspagem das colônias para observação das estruturas de identificação fúngica ao microscópio óptico em objetivas de 10 e 40X. Fazemos o reconhecimento dos tipos de estruturas fúngicas (hifas hialinas, demáceas, septada ou cenocítica, tamanho e forma dos conídios, da presença de leveduras, pseudo-hifas, blastoconídios, etc) e isso direciona para a identificação de fungos filamentosos ou leveduriformes.

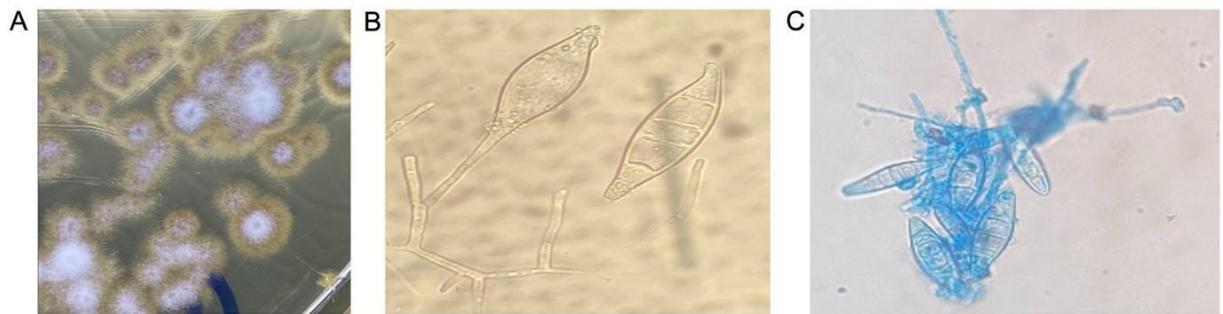


Figura 5. Análise macro e microscópica do dermatófito *M. canis*, cultivado em ASD por 15 dias a 28 °C. Aspecto macroscópico com colônia branca, verso de cor amarelo-marrom (A) e aspecto microscópico demonstrando macroconídios septados, contendo de 3 a 5 septos, visualizados sem corante (B) e com o corante azul lactofenol (C).

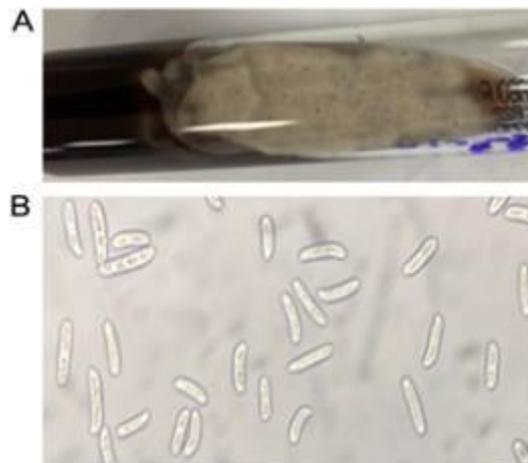


Figura 6. Análise macro e microscópica do fungo filamentoso não dermatófito *Fusarium spp.*, cultivado em ASD por 15 dias a 28 °C. Aspecto macroscópico com colônia marrom (A) e aspecto microscópico demonstrando macroconídios curvos com múltiplos septos (C).

Microcultivo em lâmina.

Também foi realizada a técnica do microcultivo em lâmina para auxiliar o reconhecimento das estruturas fúngicas e identificação das espécies analisadas. Essa técnica é conhecida como Técnica de Ridell e foi usada tanto para fungos filamentosos (dermatófitos e não dermatófitos) como para os fungos leveduriformes. O microcultivo em lâmina foi realizado pelo acondicionamento de blocos recortados dos meios de cultura ASD (10 mm x 10 mm) depositados sobre lâminas, em placas de Petri. As extremidades laterais do bloco de ágar foram inoculadas com fragmentos das colônias e então recobertas por lamínulas, utilizando materiais

devidamente esterilizados. Após incubação à temperatura ambiente por 48 a 72 horas, as lamínulas foram retiradas e observadas diretamente ao microscópio óptico sem usar coloração ou corados pelo corante azul de lactofenol algodão para estudo das estruturas de reprodução assexuada. Para as espécies de *Candida* isoladas nesse trabalho o microcultivo foi feito em Agar Fubá. Foi realizado também a prova do Tubo Germinativo em soro humano incubados a 37 °C por 2 horas cujo resultado positivo define a espécie *C. albicans*, conforme Figura 7.

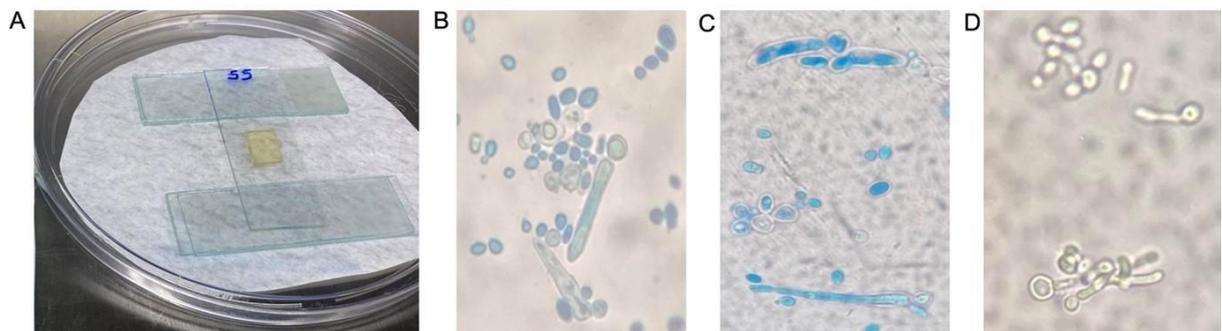


Figura 7. Identificação de *Candida* por microcultivo (A-C) e tubo germinativo (D). Montagem da placa para o microcultivo (A). Microcultivo de *C. albicans* em ágar fubá demonstrando a formação de clamidoconídios (B e C) e formação de tubo germinativo de *C. albicans* em soro humano após 2 horas a 37 °C.

Identificação de *Candida* spp.

As colônias de leveduras foram inoculadas em Ágar Cromogênico *Candida* da Mbiolog (Lote:3^a23 Validade:24/07/23) para identificação presuntiva das espécies (Figura 8A). Esse teste é particularmente muito utilizado no LSC, especialmente para amostras de origem vaginal em que a *C. albicans* é o principal agente causador (em >90% dos isolados). Além disso, para 85% das espécies de leveduras desse estudo também fizemos a identificação por espectrometria de massas (MALDI TOF MS) (Figura 8B).



Figura 8. Agar cromogênico *Candida*, demonstrando os controles de *C. albicans* ATCC 10331 com colônia verde, *C. parapsilosis* 22019 com colônia rosa, e os diferentes isolados de pacientes (A). Resultado da identificação por MALDI-TOF MS (B).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das leveduras e dermatófitos aos antifúngicos Fluconazol, Itraconazol, Terbinafina e Nistatina.

Vários métodos podem ser usados para determinar a Concentração Inibitória Mínima e nesse estudo realizamos a técnica de microdiluição em caldo. As espécies de *Candida* isoladas dos pacientes participantes da pesquisa foram avaliadas quanto à susceptibilidade aos antifúngicos Fluconazol, Itraconazol e Nistatina e os dermatófitos isolados foram avaliados quanto à susceptibilidade ao Fluconazol, Itraconazol e Terbinafina. Os protocolos padronizados pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) documentos M38-A e CLSI M27-A2 (WIEDERHOLD, 2023) foram utilizados para os fungos dermatófitos e leveduras, respectivamente. Em métodos de diluição, o crescimento dos fungos é avaliado nos poços de placas de microdiluição (96 poços) em meio de cultura líquido (RPMI 1640 tamponado com MOPS), contendo diluições seriadas dos agentes antifúngicos. A CIM do antifúngico é definida como a menor concentração, registrada em mg/L ou $\mu\text{g/mL}$, do antifúngico que inibe o crescimento do fungo. A CIM informa sobre a sensibilidade ou a resistência do microrganismo ao antifúngico, a qual pode ajudar em decisões de tratamento. A resistência microbiológica é a capacidade de crescer em concentrações de drogas que inibem isolados suscetíveis, e é medida laboratorialmente de acordo com métodos padronizados e aprovados por órgãos

governamentais como o CLSI ou o Comitê Europeu ou Brasileiro de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana (EUCAST/BRCAS). Os pontos de interrupção clínicos fornecem orientação sobre a probabilidade de um determinado isolado responder à terapia. Os valores de corte epidemiológicos utilizam CIMs para identificar isolados com resistência adquirida, geralmente por meio de mutações.

Preparo dos antifúngicos.

Todos os agentes antifúngicos usados na pesquisa foram preparados no Laboratório de Micologia do ICB-UFMG. Os antifúngicos foram pesados e dissolvidos em solventes recomendados para cada tipo conforme descritos na Tabela 1, e de acordo com documentos específicos do CLSI citados anteriormente. As soluções-padrão foram preparadas em concentrações superiores (>100 x) à maior concentração a ser testada e foram armazenadas em temperatura inferior a – 20 °C.

Tabela 1. Solvente e intervalo de concentração avaliada para os antifúngicos utilizados

	Fluconazol	Itraconazol	Terbinafina	Nistatina
Solvente	Água	DMSO	DMSO	DMSO
Concentração (µg/mL)	0,125 - 64	0,0313 - 16	0,015 - 8	0,015 - 8

Preparo da placa com meio de RPMI – 1640 com glutamina, sem bicarbonato e preparado no Laboratório de Micologia do ICB-UFMG, recomendado para teste de susceptibilidade para fungos.

Foram utilizadas placas de 96 poços conforme esquema demonstrado na Figura 9.

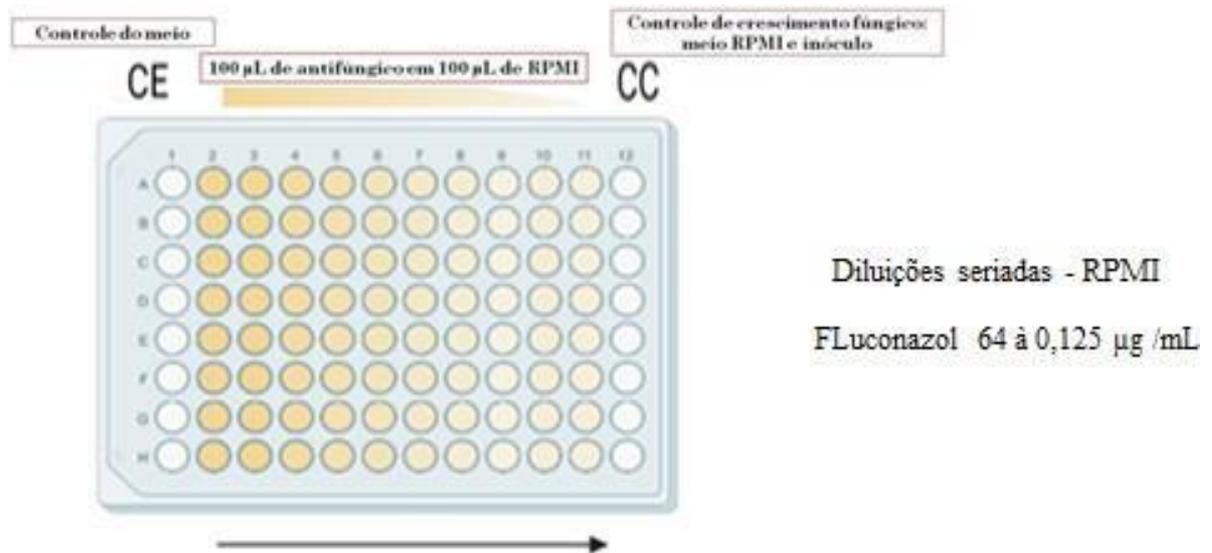


Figura 9. Esquema do preparo das placas do teste de suscetibilidade por microdiluição (retirado do documento M38A do CLSI - *Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*).

Para realização do teste, foram colocados 200 μl de meio RPMI nos poços 1 e 2 e 100 μl nos demais poço 1 é constituído pelo controle de esterilidade (apenas meio RPMI) e o poço 12, o controle de crescimento (RPMI + fungo), onde não foi colocado antifúngico. A concentração calculada de cada solução-padrão de antifúngico foi colocada no poço 2 após ser retirada a mesma quantidade de RPMI. Após homogeneização, retirou-se 100 μl e fez-se a diluição seriada até o poço 11 de forma a obter as diluições especificadas das concentrações de cada antifúngico. As placas preparadas com cada antifúngico foram devidamente identificadas e congeladas à temperatura $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Preparo do inóculo de leveduras.

Para a determinação da CIM dos antifúngicos para as diversas espécies de *Candida* utilizamos cultivos em ASD a 35°C por 24 horas (Figura 10A). A seguir, foi feita a suspensão de leveduras a partir das colônias em 2 ml de salina esterilizada, ajustando a concentração por meio de leitura em espectrofotômetro para a transmitância indicada pelo CLSI de 75 a 77% no comprimento de onda de 530 nm, de forma a obter uma solução-padrão de levedura com

concentração equivalente à escala 0,5 de McFarland que contém 1 a 5×10^6 células por mL. A seguir foi feita uma diluição 1:50 da solução-padrão de leveduras em salina. Essa solução foi em seguida diluída a 1:20 em meio líquido RPMI 1640, resultando em uma solução de trabalho com concentração final de $0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^3$ células por mL. A seguir, 100 μ l desta solução foi inoculado do poço 2 até o poço 12. O poço 1, CE, é o poço para controle de esterilidade do teste. As placas foram incubadas a 35 °C e a leitura dos MICs foram realizadas com 24 e 48 horas de forma visual e em equipamento de ELISA a 600 nm (Figura 10B).

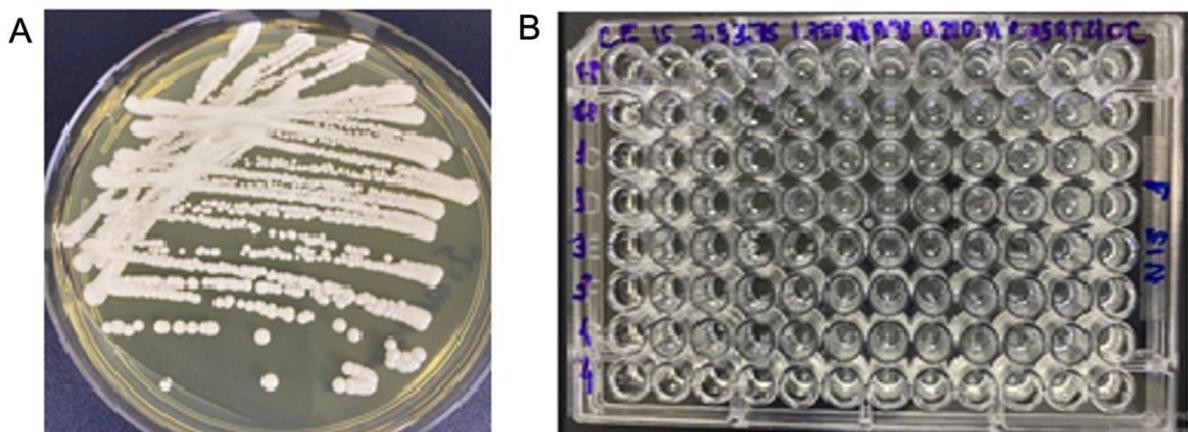


Figura 10. Cultivo de levedura em ASD (A) e placa do teste de CIM da Nistatina para *Candida*(B).

Preparo do inóculo de dermatófitos.

As colônias dos dermatófitos cultivados em placas de ASD por 7 a 14 dias a 28 °C foram cobertas com salina esterilizada, e as colônias foram raspadas com alça bacteriológica, evitando pegar meio de cultura, a suspensão fúngica foi transferida para tubo de Falcon 50 mL e homogeneizada em vórtex. A seguir, a suspensão foi filtrada em funil com lã de vidro apoiado em erlemeyer, ambos esterilizados em autoclave (Figura 11A, B), para remoção dos fragmentos de hifa. O filtrado foi transferido para tubo de Falcon de 15 mL e centrifugado por 5 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido em 1 mL de salina esterilizada.

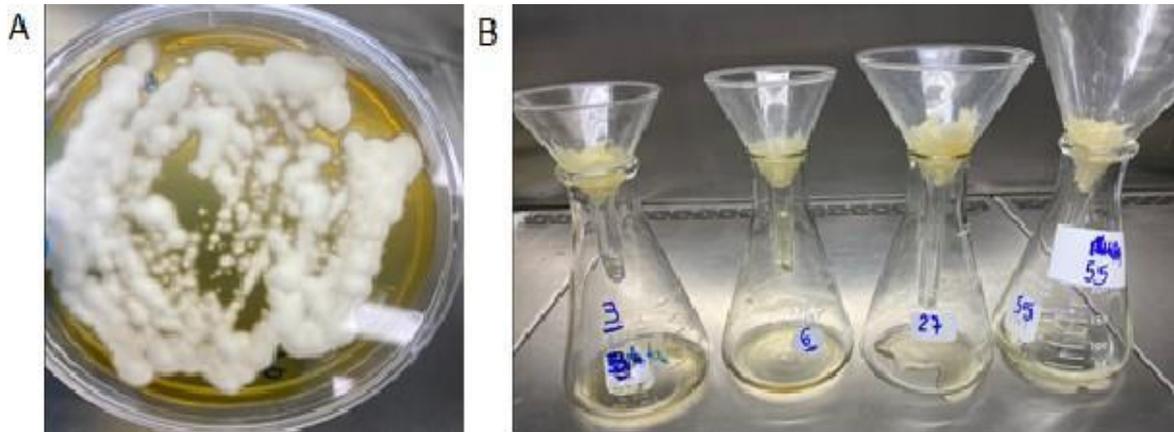


Figura 11. Cultivo de *T. rubrum* em ASD por 14 dias a 28 °C (A) e filtração em lã de vidro da suspensão para obtenção dos conídios (B).

Método para contagem dos esporos com utilização da câmara de Neubauer.

Câmara de Neubauer é um instrumento utilizado para estimar o número de células (no caso, conídios) em um volume determinado. Possui duas áreas de contagem com volume de 0,1 mm de profundidade. Cada câmara possui 9 quadrados delimitados por 3 linhas. Deve-se limpar a câmara com álcool 70%. Coloca-se a lamínula sobre os canais e as áreas de contagem marcadas (1° ao 4°). Isso é feito para garantir que a profundidade na câmara seja de 0,1 mm em toda a extensão. Uma alíquota de 10 μ L da suspensão de esporos do fungo em questão é transferida para a câmara com a ponta da pipeta no canal em um dos lados. A câmara é colocada sob o microscópio (objetiva de 40x) para realizar a contagem dos esporos com auxílio de um contador manual. São contados todos os esporos que estão dentro da área dos 4 quadrados sinalizados. Conta-se incluindo aqueles conídios que estavam sobre as linhas superior e direita do perímetro externo do quadrado. Os esporos que estavam sobre as linhas inferior e esquerda do quadrado não são incluídos na contagem. Foram realizadas diluição 1:10 e em alguns casos 1:100 com salina esterilizadas para ajustar a quantidade de conídios, quando necessário. Após cada contagem a lamínula foi retirada e juntamente com a câmara foram limpas com álcool a

70% para serem reutilizadas.

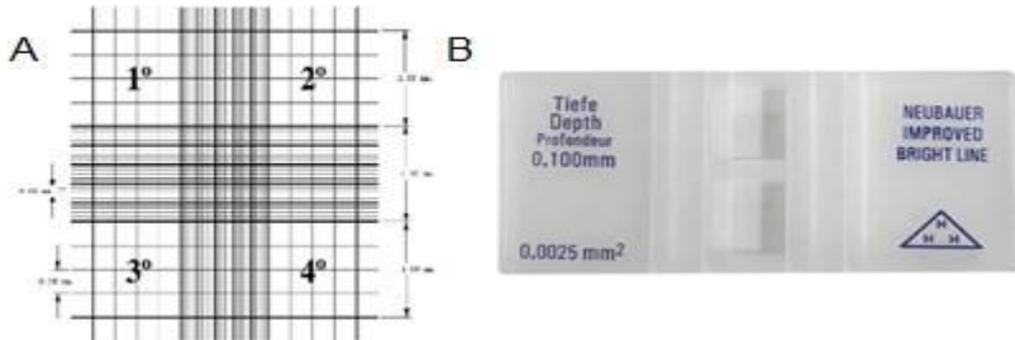


Figura 12. Câmara de Neubauer <https://www.google.com.camara+de+neubauer+imagem>

Cálculo da contagem de conídios.

Foram contados 4 quadrantes externos e calculado a média. O resultado foi multiplicado por 10000 x fd (fator de diluição).

Preparo da solução fúngica.

As suspensões de conídios foram preparadas de modo a se obter soluções de trabalho de $0,5 \times 10^3$ a $1,5 \times 10^3$ UFC/mL. Primeiramente, foi realizada uma diluição 1:100 em salina, e a seguir uma segunda diluição 1:50 em RPMI. A seguir, foram dispensados 100 uL da segunda diluição em cada poço das placas preparadas contendo Itraconazol, Fluconazol ou Terbinafina, exceto no poço CE, que é o poço para Controle de Esterilidade. Em seguida, as placas foram incubadas a 35 °C por 5 dias e as leituras visuais foram realizadas. Também realizamos a leitura em espectrofotômetro a 600 nm para Itraconazol e Fluconazol, Figuras 13 A e B.

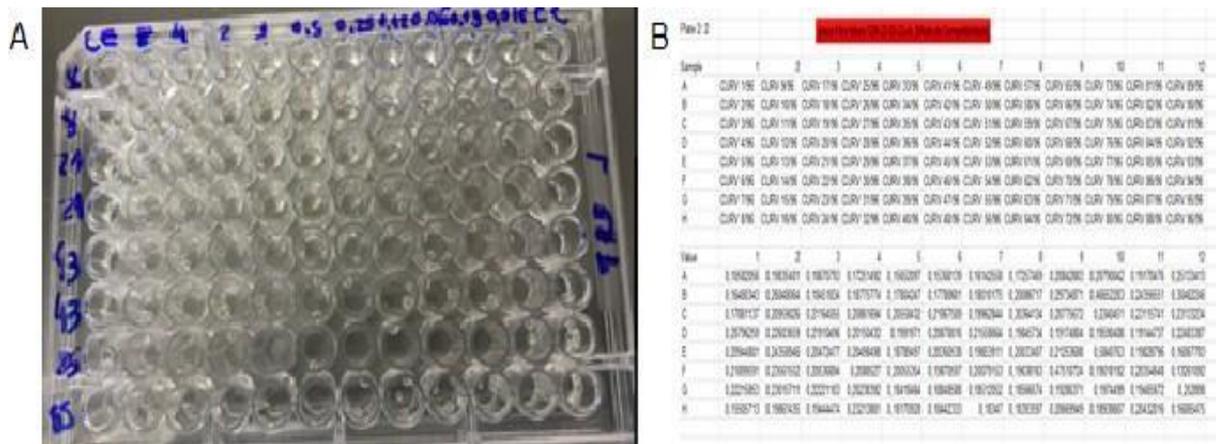


Figura 13. Concentração inibitória mínima (CIM) para dermatófitos. Placa da microdiluição em RPMI (A) e leitura da CIM em espectrofotômetro (ELISA Multiscan spectrum a 600 nm) (B).

Coleta de dados.

As fontes de onde foram retirados os dados coletados foram as fichas com as informações de identificação e dados dos pacientes, o questionário aplicado aos participantes que assinaram os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) e dos registros dos resultados de cada teste realizado no Laboratório de Micologia do ICB-UFMG ou no LSC.

Análise estatística dos resultados.

A análise dos dados desta pesquisa, Anexo 11, foi feita por meio da abordagem qualitativa. Os dados qualitativos foram submetidos à análise descritiva por meio do *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS 20.0)*. Para a associação entre as variáveis qualitativas ou categóricas, realizou-se o teste Qui quadrado de Pearson ao nível de 5% de significância (PEARSON, 1895). Os dados quantitativos (idade de pacientes) foram submetidos à análise de medidas de centralidade e dispersão e separadas em quartis.

Considerações éticas.

Este trabalho atende à Resolução 466/12 e suas normativas complementares do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa com seres humanos incluindo o armazenamento temporário, o uso de material biológico humano, análise das fichas laboratoriais com dados de identificação e/ou informações clínicas dos pacientes. O material biológico humano foi usado apenas pelos pesquisadores, para estudo dos agentes etiológicos das micoses e para inquérito epidemiológico. As informações foram coletadas após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, credenciado ao Sistema CEP/CONEP da Universidade Federal de Minas Gerais, Anexo 1. A coleta dos dados e das informações pertinentes ocorreu por análise da Ficha de Identificação de cada participante que se apresentou como voluntário no projeto e após assinatura dos termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE) ou termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) em que se assegurou a privacidade dos mesmos e garantia do sigilo dos dados.

Os dados obtidos da pesquisa terão como finalidade a elaboração da dissertação para conclusão do Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas (ICB)/UFMG, publicação dos dados epidemiológicos e divulgação interna no LSC. A pesquisadora responsável e toda a equipe envolvida neste projeto se comprometem a resguardar a confidencialidade, sigilo, privacidade e imagem dos pacientes, conforme anexo 12, Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD), em que foi devidamente autorizado pela Instituição que cedeu aos pesquisadores, e mediante assinatura destes, permitiu o acesso aos dados solicitados para serem utilizados nesta pesquisa. Os participantes não terão nenhum prejuízo com o advento do estudo, pois em momento algum haverá distinção individual de indivíduos. Para garantir o anonimato e não causar constrangimento aos participantes, seus nomes foram substituídos por números cardinal sequencial.

Riscos.

A divulgação de informações e dados do paciente seria um risco, porém os responsáveis pelo projeto mantiveram o sigilo e a identificação foi realizada por números, assegurando a confidencialidade das informações de acordo com a lei geral de proteção de dados, Lei nº 13.709/2018. Desta forma, os riscos da pesquisa são mínimos. O paciente foi convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa. Quando voluntário foi solicitado a assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido) e quando o paciente era menor de idade o responsável também assinava o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o responsável por menor além do próprio paciente assinar o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Anexos 9 A, B, C e D). Nestes termos consta a autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e o descarte do material biológico humano. A utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o paciente concordar em outros futuros.

Na coleta do material biológico para exame, os riscos de ferimento no momento da raspagem do local afetado pela micose foram mínimos e os coletadores foram treinados para que no caso de ocorrência de ferimento e sangramento esses seriam minimizados por compressão e se necessário realizar-se-ia um curativo para manter o ferimento limpo e protegido. Não tivemos nenhum ocorrido durante a pesquisa. Todos os profissionais da coleta de amostras do LSC e médicos que participaram do projeto assinaram o TCLE específico, conforme Anexos 9 E e F.

Todas as imagens usadas nesse trabalho foram autorizadas pelos pacientes mediante assinatura do Termo de autorização para uso de imagem (Anexo 10).

Os isolados das culturas analisadas foram mantidos em um biorrepositório até a conclusão deste estudo, congelados ou à temperatura ambiente e serão descartadas ao final das análises, sob o cuidado do pesquisador, conforme Termo de Constituição de Biorrepositório (Anexo 13) que foi devidamente assinado pelo Pesquisador Principal do Projeto, Representante

Legal da Instituição, Chefia do Serviço de Pesquisa e pelo Responsável Legal pela Instituição Acordante, conforme solicitado.

Benefícios.

Os participantes desta pesquisa não tiveram nenhum custo ou benefícios financeiros. Asseguramos aos participantes da pesquisa uma análise laboratorial de qualidade cujas informações auxiliarão nas intervenções médicas e permitirão a prevenção do agravamento das lesões propiciando melhoria na qualidade de vida do paciente. Com os profissionais capacitados na realização dos exames e tendo como preocupação o treinamento de outros profissionais na execução das técnicas empregadas na área de micologia, o LSC mantém a qualidade dos exames micológicos em consonância com a expectativa médica através do contínuo aperfeiçoamento técnico dos profissionais que trabalham na coleta, na realização dos exames diretos das amostras, na identificação das colônias, no reconhecimento das estruturas de reprodução assexuada dos fungos e atualmente na execução dos testes de susceptibilidade aos antifúngicos (AFST). Para a instituição é financeiramente viável a manutenção dos exames de diagnóstico micológico pelo grande volume de pacientes, pelo custo razoável dos insumos necessários à realização desses exames no laboratório, pela equipe já devidamente capacitada e pelo fácil acesso à classe médica, favorecendo assim um cuidado maior com o paciente.

5. RESULTADOS

Depois de concluída as etapas de revisão dos POPs: Exame Micológico Direto, Cultura para Fungos (Anexos 14 e 15) e treinamentos dos profissionais (Anexos 17 e 18), iniciou-se a coleta das amostras devidamente autorizadas, a realização dos exames micológicos diretos e as culturas pelos métodos convencionais de cultivo. As imagens obtidas neste trabalho e outras informações da pesquisa foram utilizadas para a criação do Manual de Identificação de Fungos

(Anexo 16), documento que vai auxiliar os profissionais da área técnica do LSC.

O teste de susceptibilidade aos antifúngicos (AFST) com determinação da CIM foi realizado para o fluconazol, itraconazol e terbinafina para os fungos dermatófitos (Norma Aprovada M38-A) e o fluconazol, itraconazol e nistatina para as espécies de *Candida* (Norma Aprovadas M27-A2), ambas do CLSI.

O setor de Micologia realiza controle interno (CIQ) e externo de qualidade (CEQ). O controle interno do EMD é realizado pela metodologia de comparação de resultados entre observadores que é realizada entre os profissionais que executam o exame micológico direto. Um profissional mais experiente separa a amostra e demais profissionais fazem o mesmo teste sem conhecerem o resultado um do outro. O profissional que é a referência na execução do teste compara o resultado de todos com o dele a fim de nivelar o conhecimento específico no reconhecimento das estruturas fúngicas, conforme Anexo 19. O controle externo da qualidade é encaminhado ao LSC pela Controllab, empresa responsável pelos ensaios de proficiência e ligada à Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e o certificado de participação mostra o resultado do setor de Micologia (Anexo 20 A e B). O LSC também possui micoteca própria com CEPAS ATCC *Candida parapsilosis* 22019 e *C. albicans* 10331 para validação e controles de testes e outras diferentes espécies fúngicas oriundas dos ensaios de proficiência ou isoladas de pacientes que são mantidas e usadas para capacitar os profissionais técnicos ou estagiários da área laboratorial que buscam melhorar seu conhecimento sendo também usadas para aulas práticas nas faculdades locais quando solicitado por professores dos cursos de áreas afins. Além disso, os atlas e livros de micologia da Controllab são disponibilizados na área de trabalho dos computadores do setor.

Dados do estudo epidemiológico.

Os dados foram coletados após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética (COEP) da

UFMG ocorrido em 16/11/22 (Anexo 1), até 20/04/23, data em que se encerrou a coleta de amostras. Embora nesse período tenham sido atendidos 1376 pacientes na área de Micologia do LSC, tivemos 83 pacientes participantes da pesquisa com assinatura dos termos de consentimento (TCLE ou TALE). Desses participantes, foi observado que 54 (65,06%) eram do sexo feminino e 29 (34,93%) do sexo masculino, conforme apresentado na Figura 14.

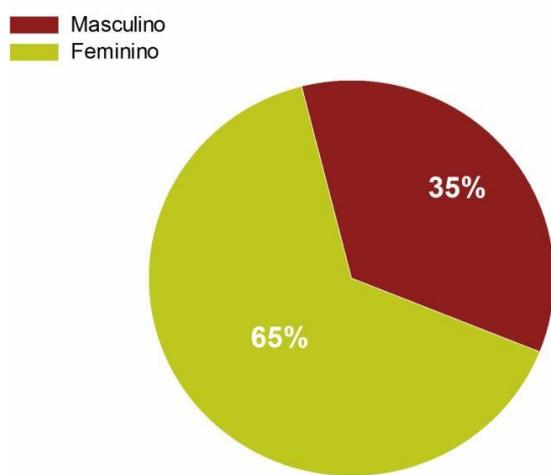


Figura 14. Distribuição do percentual de pacientes em relação ao sexo.

A Tabela 2 a seguir mostra a distribuição dos participantes pela faixa etária, obteve-se a média, desvio padrão, mínima e máxima. A idade dos pacientes variou de 2 a 80 anos na população estudada, com média geral de 44 anos ($\pm 17,2$), e o resultado reflete o perfil de atendimento de rotina da área de Micologia do LSC.

Tabela 2. Perfil etário dos pacientes.

Variável	Dados
Número amostral	83
Média de idade	44 anos
Desvio padrão	17,2
Erro Padrão da média	1,88
Amplitude	78 anos
Idade máxima	80 anos
Idade mínima	2 anos

Obs. O erro padrão é obtido pela divisão do desvio padrão pela raiz quadrada do tamanho amostral. Fonte: Dados da pesquisa.

Foi observado que as solicitações de exames ocorreram com maior frequência na faixa etária de 57 a 80 anos entre as mulheres (76%), enquanto nos homens foi a faixa de 29 a 44 anos (48%) que apresentou maior frequência dos atendimentos.

Tabela 3. Distribuição das dermatomicoses de acordo com idade e sexo.

Quartis	Faixa etária	Gênero		Total
		Feminino	Masculino	
1º	2 a 28 anos	13 (62%)	8 (38%)	21
2º	29 a 44 anos	11 (52%)	10 (48%)	21
3º	45 a 56 anos	14 (70%)	6 (30%)	20
4º	57 a 80 anos	16 (76%)	5 (24%)	21

Os sítios anatômicos de coleta foram determinados pelos médicos prescritores dosexames e as amostras predominantemente solicitadas foram as amostras das unhas dos pés, especialmente os raspados subungueais dos halux direito/esquerdo, totalizando 79 amostras que

corresponderam a 59,39%, os raspados dos pés (direito e esquerdo, plantar e bordas) totalizaram 17 amostras que corresponderam a 12,78%, as unhas das mãos direita e/ou esquerda totalizaram 11 amostras correspondendo a 8,27% e ainda as amostras das regiões cervicais, tronco, tórax, lombar e abdominal que juntas totalizaram 12 amostras correspondendo a 9,02%, virilha com 03 amostras (2,25%), 01 do couro cabeludo (0,75%), 01 da coxa (0,75%) e outras regiões da pele (09) que corresponderam a 6,79%. As regiões anatômicas e suas respectivas frequências estão discriminadas a seguir na Figura 15.

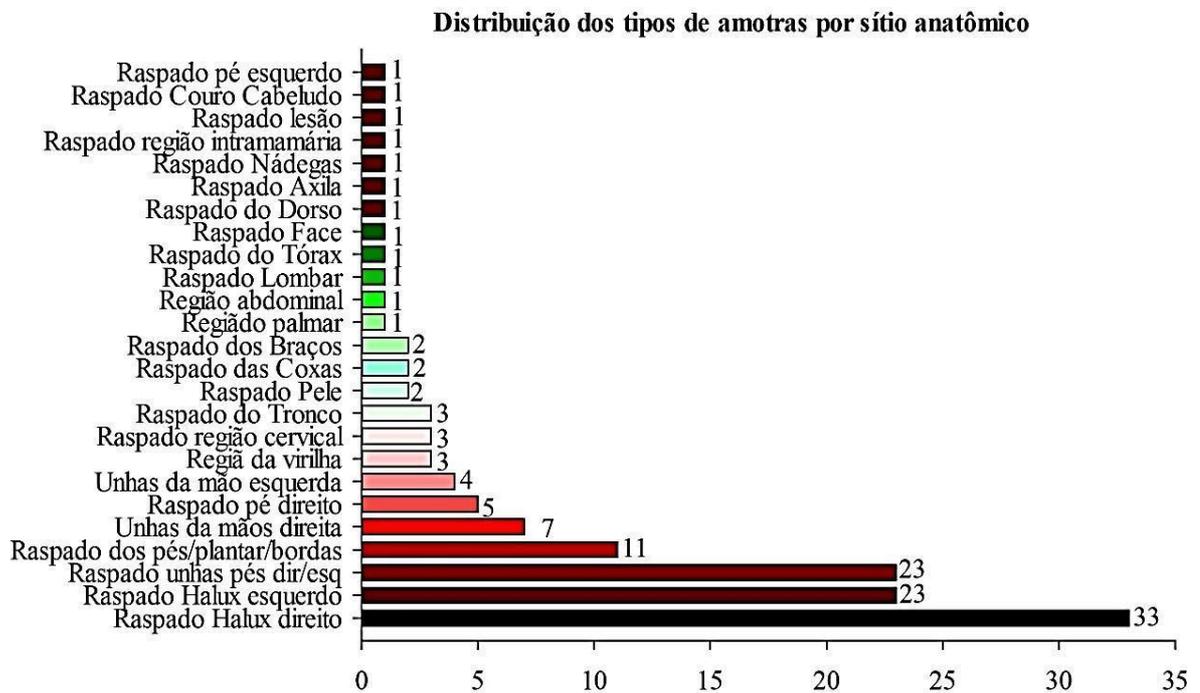


Figura 15. Distribuição do número de amostras de acordo com o sítio anatômico.

Foram realizados 132 exames micológicos diretos com 68,18% positivos (90 amostras) e 31,82% negativos (42 amostras). Na Tabela 4 estão apresentados os resultados em relação às variáveis dos EMDs. Os achados das diferentes estruturas fúngicas foram descritos como presença de hifas hialinas septadas e ramificadas, presença de leveduras apresentando brotamentos (com pseudo-hifas em alguns casos) e presença de blastoconídeos (e hifas curtas

em alguns casos) característicos do gênero *Malassezia*. Os achados foram reportados na quantidade encontrada e descritos como raros, número regular ou numerosos. Além disso, entre os resultados positivos, 58,88% foram detectados em pacientes do sexo feminino e 41,11% em pacientes do sexo masculino (Tabela 4).

Tabela 4. Variáveis dos resultados dos exames micológicos diretos.

Resultado do exame micológico direto – EMD	n	%
Negativos	42	31,82
Numerosas hifas hialinas septadas ramificadas	29	21,97
Número regular de hifas hialinas septadas	16	12,12
Raras hifas hialinas septadas	13	9,85
Numerosas leveduras apresentando brotamentos com características do gênero <i>Candida</i>	12	9,09
Número regular de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero <i>Candida</i>	6	4,54
Numerosos blastoconídeos em cachos e hifas curtas sugestivos do gênero <i>Malassezia</i>	5	3,79
Raras leveduras apresentando brotamentos com características do gênero <i>Candida</i>	3	2,28
Presença de blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero <i>Malassezia</i>	2	1,51
Presença de blastoconídeos sugestivos do gênero <i>Malassezia</i>	2	1,51
Presença de número regular de blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero <i>Malassezia</i>	1	0,76
Presença de leveduras com características do gênero <i>Candida</i>	1	0,76
Total	132	100

Fonte: Dados da pesquisa.

Foram realizadas 112 culturas para fungos para o diagnóstico de micoses cutâneas. Dessas, 76 foram positivas (67,85%) e 36 negativas (32,14%). Entre os agentes etiológicos isolados, os fungos dermatófitos se mostraram os mais prevalentes com 52,5% de frequência,

totalizando 42 isolados, as leveduras 28,75% (23 isolados) e os fungos filamentosos não dermatófitos 18,75% (15 isolados). Entre os dermatófitos, *T. Rubrum* representou 61,90% (26 isolados), *T. Mentagrophytes* 26,19% (11), *Trichophyton* spp. 7,14% (3) e *M. Canis* 4,76% (2). Entre os fungos filamentosos não dermatófitos foram isolados *Fusarium* spp. E *Aspergillus* spp. (7 cada) e representaram 46,66% cada, e *Scytalidium* spp. 6,66% (1). Dentre as culturas positivas para leveduras, *Candida parapsilosis* representou 47,82% (11), *Candida* spp. 17,39% (4), *C. albicans* 8,69% (2), *C. guilliermondii* 8,69% (2), *C. pelliculosa* (1), *C. orthopsilosis* (1), *Sacharomyces cerevisiae* (1) e *Malassezia* spp. (1) representaram 4,34% cada.

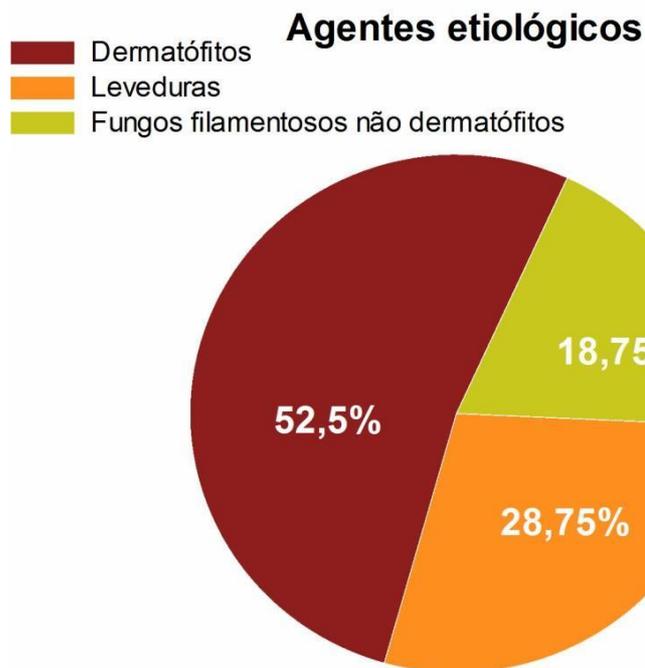


Figura 16. Percentual de distribuição dos agentes causadores de dermatomicoses no LSC.

Em relação aos sítios especificados pelos médicos foi observado que 24 participantes (28,91%) tiveram mais de 01 região anatômica acometida por infecção fúngica, sendo que 06 deles (26, 34, 57, 62, 79 e 83) apresentaram mais de dois sítios acometidos, em 02 pacientes (79 e 83) observou-se crescimento de espécies fúngicas diferentes em cultura e 01 participante (62) apresentou associação com a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* na unha do 1º

pododactilo. Além disso, em 03 pacientes do sexo masculino mais de um agente foi encontrado infectando/colonizando os sítios anatômicos das unhas dos halux (direito/esquerdo) sendo *T. Rubrum* associado à *C. guilliermondii* (paciente 27), *Trichophyton* spp. Associado à *Scytalidium* spp. (paciente 83), *T. Rubrum* associado à *Sacharomyces cerevisiae* (paciente 8); e no sexo feminino foi encontrado *Fusarium* spp. Associado à *Candida* spp. (paciente 71). A frequência de distribuição dos fungos isolados e regiões anatômicas estão demonstradas na Tabela 5.

Tabela 5. Sítios anatômicos e frequência de espécies isoladas em cultura.

Sítios anatômicos/espécies fúngicas isoladas	n	%
Raspados dos halux D/E/unhas pés		
Negativos	28	36,36
<i>Candida parapsilosis</i>	6	7,79
<i>Trichophyton rubrum</i>	18	23,37
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	7	9,09
<i>Fusarium</i> spp	6	7,79
<i>Aspergillus</i> spp	4	5,19
<i>Trichophyton</i> spp	2	2,59
<i>Candida guilliermondii</i>	1	1,29
<i>Candida</i> spp	3	3,89
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	1	1,69
<i>Scytalidium</i> spp	1	1,29
Raspados dos pés D/E e bordas plantares		
Negativos	3	18,75
<i>Trichophyton rubrum</i>	8	50,00
<i>Trichophyton</i> spp	1	6,25
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	4	25,00
Raspados das unhas das mãos D/E/Polegar		

Negativos	1	8,33
<i>Candida parapsilosis</i>	3	25,00
<i>Candida orthopsilosis</i>	1	8,33
<i>Candida guilliermondii</i>	1	8,33
<i>Candida albicans</i>	1	8,33
<i>Candida spp</i>	1	8,33
<i>Aspergillus spp</i>	3	25,00
<i>Fusarium spp</i>	1	8,33
Raspado da região do cotovelo		
Negativo	1	100
Raspados da região cervical		
<i>Malassezia spp</i>	1	100
Raspado da região abdominal		
Negativo	1	100
Raspado da região da virilha		
<i>Trichophyton rubrum</i>	1	33,33
<i>Candida albicans</i>	1	33,33
<i>Candida pelliculosa</i>	1	33,33
Raspado da coxa		
<i>Microsporium canis</i>	1	100
Raspado da região intramamária		
<i>Candida parapsilosis</i>	1	100
Raspado de lesão e braços		
Negativo	2	100
Raspado do couro cabeludo		
<i>Microsporium canis</i>	1	100

Fonte: Dados da pesquisa

O maior número de culturas foi realizado em pacientes do sexo feminino totalizando 79, com positividade de 65,82% e 33 culturas foram realizadas no sexo masculino com positividade

de 75,67%. Os fungos dermatófitos prevaleceram com frequência de 57,14% nos homens e 42,85% nas mulheres enquanto as espécies de *Candida* foram mais prevalentes no sexo feminino com 85,71% e 16,66% nos homens. Entretanto os FFND predominaram no sexo feminino com 93,33% de frequência.

Além disso, essa porcentagem foi confirmada pela análise de predominância do fungo em relação ao sexo utilizando o teste do Qui-Quadrado que nos mostra a propensão de acometimento das espécies de *Trichophyton* no sexo masculino e das leveduras, *Candida* sp., no sexo feminino no sítio 1 ($p < 0,05$ o nível de significância). No sítio 2 não houve diferença estatística pelo p -valor.

Tabela 6. Associação de cada resultado da cultura fúngica em relação ao sexo.

CTFun	Sítio 1		p-valor	Sítio 2		p-valor
	Feminino	Masculino		Femini no	Masculino	
Negativo	16	4	0,16	11	5	0,78
Não feito	18	9	0,86	20	10	0,88
<i>Candida</i> sp	8	0	0,03*	7	2	0,43
<i>Trichophyton</i> sp	9	15	0,00**	8	9	0,11
<i>Fusarium</i> sp	4	0	0,20	3	0	0,20
<i>Aspergillus</i> sp	4	0	0,20	3	0	0,30
<i>Sacharomyces</i> sp	-	-	-	0	1	0,16
<i>Malassezia</i> sp	0	1	0,17	-	-	-
<i>Scytalidium</i> sp	0	1	0,17	-	-	-
<i>Microsporium</i> sp	1	1	0,65	-	-	-
Total	60	31		52	27	

Sítio 1= Hálux, unhas mãos e pé esquerdo; **Sítio 2** = Hálux, unhas mãos e pés direito; **CTFun** = Cultura fúngica; *, ** significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste Qui-Quadrado.

O estudo realizado mostrou ainda que a onicomicose foi a manifestação clínica mais frequente caracterizando 67% dos exames, seguido da tinea pedis com 14% e pitíriase

versicolor com 11,75%. A tinea corporis, cruris e tinea capitis tiveram a mesma frequência de 1,25%, conforme mostrado na Tabela 7.

Tabela 7. Frequência de dermatomicoses

Principais infecções fúngicas	n	%
Onicomicoses	59	67,00
Tinea pedis	14	17,50
Pitíriase versicolor	9	11,75
Tinea capitis	1	1,25
Tinea corporis	1	1,25
Tinea cruris	1	1,25
Total		100

Fonte: Dados da pesquisa

Conforme mostra a Figura 16, 68,67% dos pacientes (57) não apresentaram comorbidades. Entretanto, 7,22% dos pacientes eram diabéticos (6), 4,81% apresentavam diagnóstico (4) ou estavam sob investigação devido à suspeita clínica de psoríase, 2,4% encontravam-se em tratamento de oncologias (2), além de outras condições que favorecem o desenvolvimento de infecções fúngicas como traumas (5) com 6,02% e líquen plano (1) representando 1,20%, atologia essa caracterizada como autoimune. Apenas 2,40% (2) dos participantes informaram sobre o hábito do tabagismo (15 e 83) e essa condição em um deles estava associada a histórico de infecções anteriores de longo tempo e o outro paciente, tabagista há 40 anos, apresentava diagnóstico de psoríase.

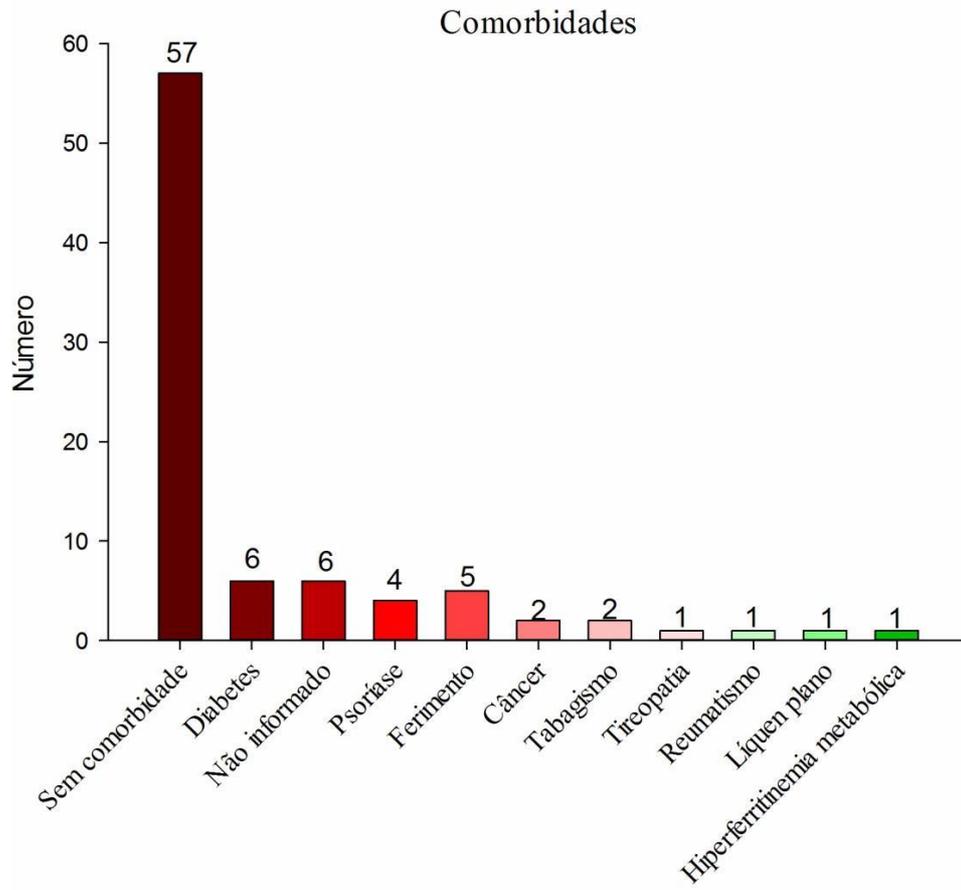


Figura 17. Comorbidades e outros fatores predisponentes de micoses.

A seguir imagens dos pés de paciente diabético (Figuras 18 A e B) e paciente com psoríase, (Figura 18 C), ambos tabagistas.



Figura 18. Onicomicose por *Trichophyton rubrum* em paciente diabético (A e B) e com psoríase (C).

Além disso, 18,60% dos pacientes participantes conviviam diretamente com animais ou tiveram contato com locais onde há presença de animais de estimação, principalmente cães, e observou-se que *M. Canis* foi o fungo isolado em 02 deles.

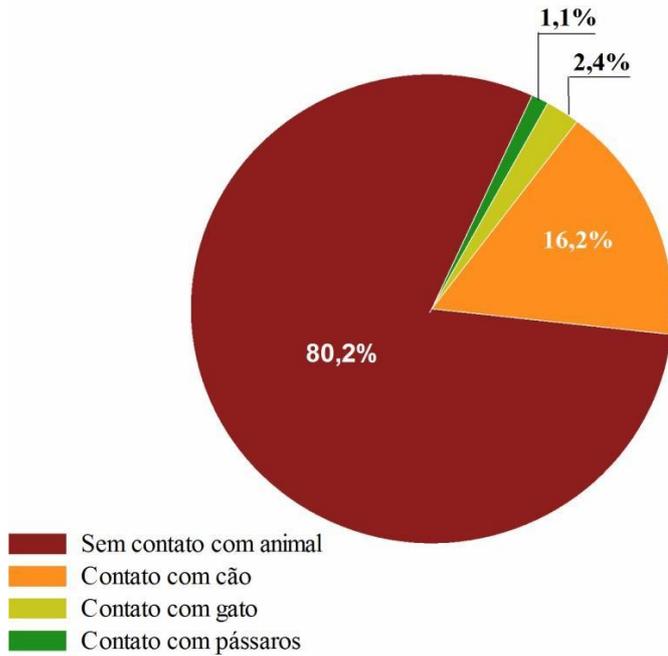


Figura 19. Percentual de pacientes com convivência com animais.

Observou-se também que os pacientes sofriam em sua maioria entre 4 meses a 2 anos (34,9%) com diferentes infecções fúngicas e, de acordo com as informações registradas, sentiam-se desconfortáveis e com baixa auto-estima, especialmente os pacientes cujas atividades profissionais (dentista, comércio de alimentos, etc) dependiam de uma boa apresentação estética, e isso fez com que retornassem ao médico e realizassem o tratamento de forma mais rápida.

Tabela 8. Tempo da lesão.

Quartis	Faixas do tempo da lesão	n	%
1º	5 dias à 4 meses	22	26,5%
2º	4 meses a 2 anos	29	34,9%
3º	2 anos à 5 anos	17	20,5%
4º	5 anos a 20 anos	15	18,1%
Total		83	100%

Fonte: Dados da pesquisa.

Nossas análises demonstraram ainda que 20,5% dos pacientes (17) usavam

medicamentos antifúngicos tópicos ou sistêmicos antes ou no momento da coleta, como apresentado na Figura 20, (esmalte, creme, pomada ou antifúngicos orais) e embora 18,07% dos pacientes (15) não especificaram os medicamentos usados, em alguns casos essas medicações também podem ter contribuído para o percentual de negatividade das culturas.

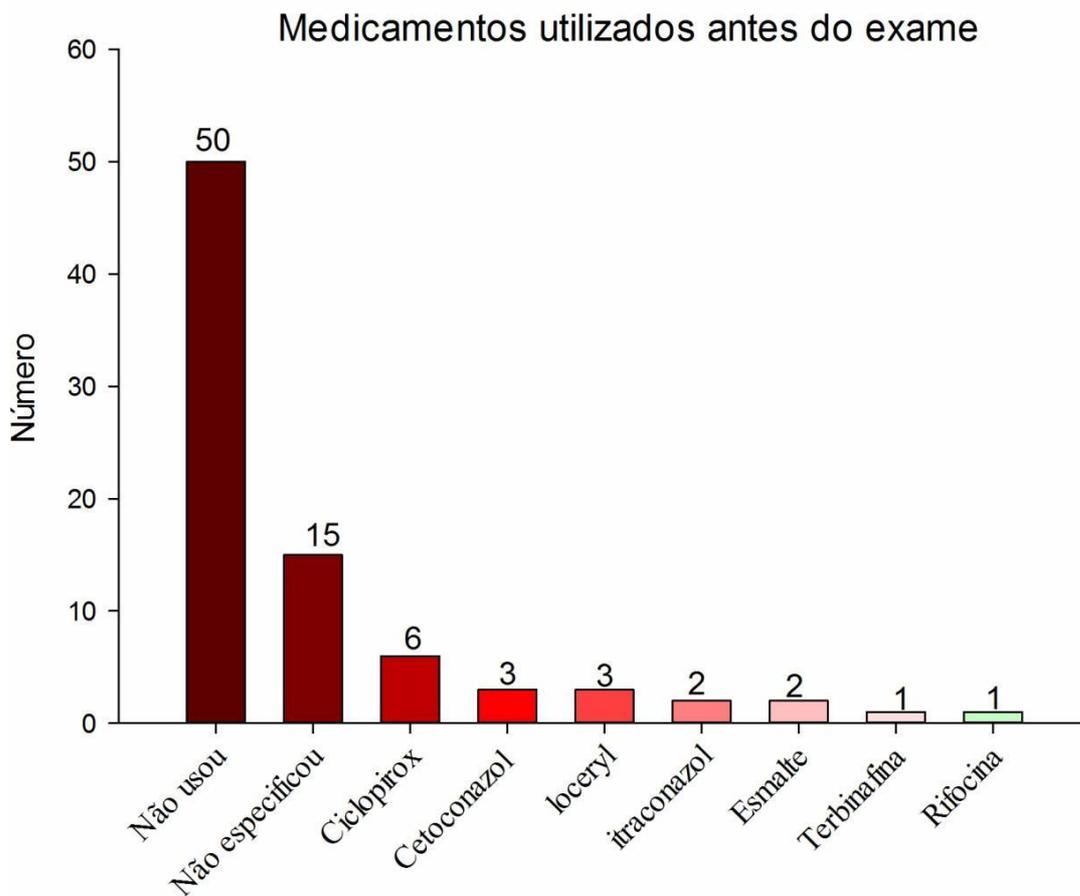


Figura 20. Medicamentos tópicos ou sistêmicos usados pelos pacientes antes da realização dos exames.

Conforme mostrado na Figura 21, observou-se que 41% dos pacientes fizeram adesão ao tratamento especificado pelo médico após a realização dos exames micológicos e apresentaram melhora clínica. Entretanto, 22% fizeram adesão parcial ao tratamento e não apresentaram a melhora esperada, enquanto 30% dos pacientes não fizeram o tratamento pelo motivo de terem tido melhora do quadro clínico ou por negatividade da cultura ou ainda por

apresentarem outros diagnósticos que eram prioridade no momento, como CA, hepatopatias ou infecção pelo vírus Chikungunya, enquanto outros não retornaram ao médico ou não informaram quando questionado sobre o assunto e 7% retornaram, porém, não realizaram o tratamento.

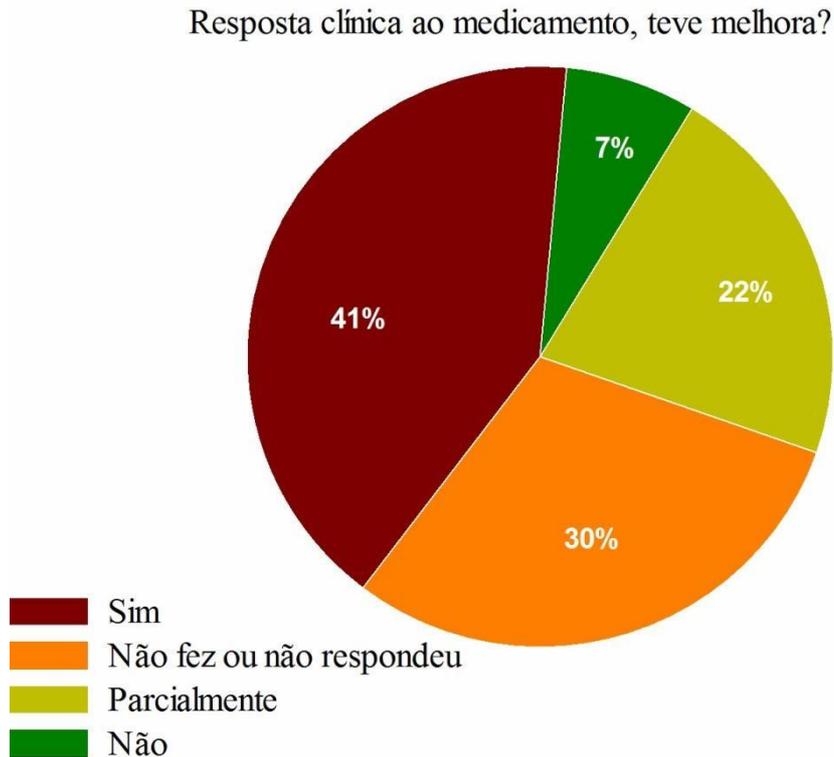


Figura 21. Perfil de melhora clínica em resposta ao tratamento prescrito pelo médico.

As Figuras 22 e 23 mostram a melhora clínica de dois pacientes com dermatofitose.



Figura 22. Tinea ungueum por *Trichophyton mentagrophytes* antes do tratamento (A), prescrito pelo médico com Terbinafina em associação com Loceryl esmalte nas unhas (B), demonstrando melhora clínica após 45 dias de tratamento (C).



Figura 23. Tinea pedis por *Trichophyton rubrum* antes (A e B) e após o tratamento com Terbinafina (C e D).

Os antifúngicos mais prescritos pelos médicos dermatologistas para o tratamento sistêmico das onicomicoses (unhas dos pés e mãos) e usado pelos pacientes que apresentaram melhora clínica após adesão ao tratamento foi a terbinafina ou o itraconazol associado à amorolfina/Loceryl para uso tópico. Para a tinea pedis, corporis e cruris, o itraconazol foi prescrito com mais frequência e para a tinea capitis usou-se a terbinafina. Para Pitiríase versicolor, o tratamento médico mais frequente foi o cetoconazol de uso sistêmico (oral) e/ou Shampoo de Cetoconazol associado ao Hipossulfito de Sódio a 40%. A Tabela 9 apresenta a associação entre as variáveis qualitativas do uso dos medicamentos e a resposta clínica ao tratamento e os dados apresentados demonstram que a maioria dos pacientes tiveram melhora clínica parcial ou total. Entretanto, no tratamento prescrito com hipossulfito para a pitiríase versicolor os pacientes não apresentaram melhora clínica ou apresentaram melhora apenas parcial. Isso pode ser explicado pelo fato de que a maioria dos participantes ainda não tinham completado o ciclo do tratamento ou porque alguns estavam nos primeiros dias de tratamento e por isso o *p*-valor não foi significativo.

Além da associação medicamentosa usada na pitiríase versicolor, nos tratamentos das onicomicoses a maioria dos pacientes teve tratamento combinado, especialmente a associação de terbinafina com loceryl esmalte.

Tabela 9. Associação entre o uso dos medicamentos e melhora do quadro clínico.

Medicamento	Resposta ao tratamento. Houve melhora clínica?			p-valor
	Sim	Parcialmente	Não	
Amorolfina	0	1	0	0,33
Cetoconazol	3	5	1	0,25
Ciclopirox	5	3	1	0,98
Fluconazol	0	2	0	0,11
Isoconazol	2	0	0	0,49
Itraconazol	8	1	1	0,33
Loceryl	9	3	1	0,74
Terbinafina	7	1	0	0,24
Hipossulfito	0	2	2	0,01**
Total	34	18	6	-

** significativo a 1% pelo teste Qui-Quadrado

Ainda, nesse estudo foi avaliado o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos realizados de acordo com o Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo, Norma Aprovada: M27-A2 do CLSI para os isolados da espécie *Candida* e a Norma Aprovada M38-A para os fungos dermatófitos. A CIM de antifúngicos de uso clínico foi determinada para 40% dos isolados obtidos neste estudo. A leitura dos testes foi realizada de forma visual e por espectrofotometria a 600 nm para os antifúngicos Fluconazol e Itraconazol e para a Terbinafina e Nistatina foram realizadas apenas leitura visual e os resultados estão dispostos nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10. Distribuição dos valores de CIM do Fluconazol, Itraconazol e Terbinafina pelo método de microdiluição em caldo para determinação da sensibilidade pelo *Clinical Laboratory Standard Institute* (Norma M38-A), para fungos dermatófitos.

Espécies	MIC de Fluconazol em µg/mL									
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
<i>T. rubrum</i> (4)*		3			1					
<i>T. mentagrophytes</i> (3)	1			1	1					
<i>M. canis</i> (1)			1							
Espécies	MIC de Itraconazol em µg/mL									
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
<i>T. rubrum</i>	3		1							
<i>T. mentagrophytes</i>	2	1								
<i>M. canis</i>	1									
Espécies	MIC de Terbinafina em µg/mL									
	0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
<i>T. rubrum</i>	4									
<i>T. mentagrophytes</i>	3									
<i>M. canis</i>	1									

CIM: Concentração Inibitória Mínima/**T**: *Trichophyton*/**M**: *Microsporum*. (*) Número de cada espécie em que se determinou a CIM.

Tabela 11. Distribuição dos valores de CIM do Fluconazol, Itraconazol e Nistatina pelo método de microdiluição em caldo para determinação da sensibilidade de Leveduras pelo *Clinical Laboratory Standard Institute* (Norma M27-A2) para leveduras.

Espécies	MIC de Fluconazol em µg/mL									
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
<i>C. parapsilosis</i> (11)		7	2	1	1					
<i>C. albicans</i> (2)*			1				1			
<i>C. guilliermondii</i>					1		1			
<i>C. pelliculosa</i> (1)			1							
<i>C. orthopsilosis</i> (1)				1						

C. parapsilosis ATCC 22019; Valor de Referência: 1,0 a 4,0 ug/mL; Resultado: 2,0 ug/mL.

Espécies	MIC de Itraconazol em µg/mL									
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
<i>C. parapsilosis</i>	5	3	1		2					
<i>C. albicans</i>			1							1
<i>C. guilliermondii</i>		1	1							
<i>C. pelliculosa</i>		1								
<i>C. orthopsilosis</i>	1									

C. parapsilosis cepa ATCC 22019; Valor de Referência: 0,125 a 0,5 ug/mL. Resultado: 0,125 ug/mL.

Espécies	MIC de Nistatina em µg/mL									
	0,02	0,05	0,11	0,23	0,46	0,9	1,8	3,75	7,5	15
<i>C. parapsilosis</i>							2	9		
<i>C. albicans</i>						1	1			
<i>C. guilliermondii</i>							1	1		
<i>C. pelliculosa</i>							1			
<i>C. orthopsilosis</i>							1			

C. parapsilosis cepa ATCC 22019; Valor de Referência: 0,5 a 4 ug/mL. Resultado: 0,46 ug/mL.

CIM: Concentração Inibitória Mínima/Leitura: 72 – 75 % Transmitância a 530 nm. (*) Número de cada espécie em que se determinou a CIM.

6. DISCUSSÃO

A humanidade tem sido atormentada por doenças infecciosas ao longo da história e as infecções fúngicas representam um exemplo de doenças negligenciadas, sendo responsáveis por aproximadamente 1,7 milhões de mortes anualmente (KAINZ *et al.*, 2020). A sensibilização a nível social e governamental envolvendo as autoridades de saúde deve ser aumentada no sentido da melhoria do diagnóstico e na busca de opções de tratamento para novas estratégias terapêuticas em virtude do desenvolvimento e aumento da resistência. Os testes de diagnóstico e suscetibilidade aos antifúngicos precisam ser mais padronizados, uma vez que a atual falta de protocolos unificados possam causar discrepâncias entre laboratórios e dificuldades na interpretação dos dados obtidos, lembrando que esse é um requisito crucial para encontrar a opção de tratamento ideal para um paciente (KAINZ *et al.*, 2020). Embora os Laboratórios de pesquisa utilizem a biologia molecular para identificação dos fungos, os Laboratórios de Análises Clínicas, assim como o LSC, realizam sua rotina de Micologia pela taxonomia clássica baseada no achado das estruturas fúngicas pelo exame micológico direto, observadas em microscopia óptica e/ou na análise macro e micromorfológica das colônias de fungos observando aspecto (verso e anverso), cor, presença de pigmentos e muitas vezes fazendo uso da técnica de microcultivo que auxilia a identificação dos agentes etiológicos pela visualização das estruturas de reprodução. Atualmente alguns laboratórios possuem equipamentos para identificação por espectrometria de massa (MALDI-TOF), usado principalmente para fungos leveduriformes. Para os fungos filamentosos dermatófitos raramente a identificação em laboratórios de análises clínicas dar-se-á por essas metodologias.

As dermatomicoses são doenças comuns entre os humanos sendo causadas principalmente por fungos dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos. A prevalência das infecções fúngicas pode variar de acordo com região e fatores como as condições climáticas, sócioeconômicas, migração, convivência com animais de estimação, tipo

de trabalho, estilo de vida, idade, sexo, doenças concomitantes, além de outros fatores pessoais que pode predispor o paciente ao contato com os agentes fúngicos através do solo, animais e que possam contribuir para a variação da epidemiologia das micoses (CHANYACHAILERT; LEEYAPHAN; BUNYARATAVEJ, 2023). (SEGAL; ELAD, 2021).

O conhecimento do perfil epidemiológico dos agentes fúngicos causadores das dermatomicoses e os resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* pode ser útil para instalação de medidas adequadas na prevenção da frequência dessas infecções, uma vez que a resistência é hoje um problema emergente. Ao médico essa informação auxilia no monitoramento da resistência aos principais antifúngicos usados rotineiramente na dermatologia e facilita a correlação com a resposta clínica mostrando o direcionamento assertivo na escolha do tratamento quando há melhora clínica correlacionada à adequada adesão ao tratamento por parte dos pacientes.

Vários fatores podem contribuir para a seleção e desenvolvimento de resistência aos antifúngicos como a automedicação pelo uso tópico ou sistêmico dessas drogas, má absorção dos fármacos, eliminação alterada pela associação com outras drogas, baixa adesão ao tratamento ou substituição de medicamentos pelos próprios pacientes (KHAN; HAY; SAUNTE, 2022). Os testes de suscetibilidade aos antifúngicos (AFST) para fungos dermatófitos não são rotineiramente realizados pelos laboratórios de análises clínicas pela dificuldade de padronização da técnica. Entretanto, vários métodos têm sido usados para determinar a CIM como o Etest, diluição em ágar, teste de disco difusão em ágar, macro e microdiluição em caldo e todas diferem entre si na concentração do inóculo, temperatura e tempo de incubação, meios de cultura usados e no critério do ponto final de crescimento fúngico, tornando-se difícil comparar os resultados (KHAN; HAY; SAUNTE, 2022). Mesmo sendo uma importante ferramenta na detecção do surgimento de resistência aos antifúngicos utilizados na prática dermatológica, a baixa produção de esporos e o crescimento lento dos

dermatófitos tornam os AFST extermamente trabalhosos para uso rotineiro e neste estudo várias dessas características citadas foram observadas durante a realização das metodologias de contagens de conídios em câmara de Neubauer corroborando as afirmações acima.

A CIM antifúngica é definida como a menor concentração, em mg/L ou µg/mL, de um agente que inibe o crescimento de um fungo. A CIM informa sobre a suscetibilidade ou resistência do organismo ao antifúngico, o que pode auxiliar na decisão do tratamento. A CIM permite que os microrganismos sejam categorizados como susceptíveis (S), intermediários (susceptíveis com exposição aumentada) (I) ou resistente (R) a um fármaco antifúngico, quando os pontos de corte apropriados são aplicados. Além disso, as distribuições da CIM podem ser usadas para definir populações fúngicas de tipo selvagem ou não selvagem quando valores de corte epidemiológicos específicos de espécies (ECOFFs) são aplicados. (ARENDRUP *et al.*, 2021). O AFST foi realizado, nesse trabalho, de acordo com os documentos M38-A e M27-A2 do CLSI para os fungos filamentosos e leveduras, respectivamente.

As espécies de *Candida*, em sua maioria, foram identificadas por espectrometria de massa por MALDI-TOF e avaliadas quanto à susceptibilidade a os antifúngicos Fluconazol, Itraconazol e Nistatina. Os dermatófitos e os fungos filamentosos não dermatófitos foram identificados pelos métodos convencionais de cultura e estudo micro e macroscópico das colônias. A susceptibilidade ds dermatófitos isolados foi avaliada para os antifúngicos Fluconazol, Itraconazol e Terbinafina.

A Terbinafina (TRB), uma droga antifúngica da classe das alilaminas, é considerada a droga de primeira linha para tratamento de tinea causada por *Trichophyton* spp.. A TRB inibe a enzima esqualeno epoxidase (SE) interferindo na biossíntese do ergosterol, um componente essencial da membrana celular (SAUNTE, 2019). Os azóis, uma classe de antifúngicos de amplo espectro, foram descobertos em 1944 e aprovados para uso humano na década de 1950. Com base no número presente no anel aromático dos azóis, eles são classificados em três

grupos: imidazóis, triazóis e tetrazóis. Os imidazóis têm dois átomos de nitrogênio no anel azol e os triazóis têm três átomos de nitrogênio no anel azol. Miconazol, clotrimazol, econazol, cetoconazol, tioconazol, sulconazol, serconazol e luliconazol representam os medicamentos azólicos à base de imidazol e terconazol, fluconazol, isavuconazol (isavuconazol - pró-fármaco de isavuconazol), itraconazol, voriconazol, posaconazol, eficonazol e albaconazol representam o triazol grupo de drogas (RABAAN *et al.*, 2023). O tetrazol, um composto recentemente desenvolvido no grupo dos azóis, apresenta atividade de amplo espectro contra espécies de fungos, mas seu uso é limitado, pois a maioria dos medicamentos está em fase de testes e precisa ser aprovada por agências mundiais. Os medicamentos do grupo azólico inibem as enzimas 14 α -lanosterol desmetilase, causando um distúrbio na biossíntese do ergosterol, um componente significativo da membrana celular. Como resultado, as células fúngicas sofrem esgotamento de ergosterol e acúmulo de esteróis 14-metilados tóxicos, levando à lise e morte celular. Os azóis apresentam atividade fungicida e fungistática contra fungos dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Coccidioides*, *Aspergillus* (RABAAN *et al.*, 2023).

O primeiro polieno antifúngico fungicida, mais tarde chamado de nistatina, foi descoberto em 1949. Mais de 200 polienos como antibióticos específicos para fungos foram descobertos e usados para tratar infecções fúngicas em humanos. Esses agentes antifúngicos apresentam atividade fungicida contra numerosas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Candida* e *Cryptococcus*. Geralmente, os polienos possuem uma estrutura de anel macrolactona com núcleo heptaeno ou policetídeo cíclico (20–40 átomos de carbono incluindo 3–8 ligações duplas conjugadas) e são produzidos pela bactéria Gram-positiva *Streptomyces nodosus*. Com base nas ligações duplas conjugadas, os polienos são caracterizados como trienos, tetraenos, pentaenos, hexaenos, heptaenos, etc (RABAAN *et al.*, 2023). Foram identificados aproximadamente seis polienos que poderiam ser usados para terapia antifúngica: anfotericina B, nistatina, natamicina (também chamada pimaricina), candicidina, tricomicina e metil partricina. Estes agentes

antifúngicos exibem dois modos de ação diferentes contra os fungos, (i) os polienos incorporam-se na bicamada lipídica do fungo e ligam-se à molécula de ergosterol, resultando na formação de poros na parede celular do fungo e extravazamento de íons essenciais (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Cl^-) e moléculas de energia (glicose), levando à morte das células fúngicas; (ii) os polienos instigam a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) em fungos, o que causa danos substanciais à proteínas fúngicas, às mitocôndrias, à membrana celular e ao DNA. Outro modo de ação do polieno é a extração ou adsorção de ergosterol da membrana, levando à desestabilização da membrana e ao distúrbio da função da proteína da membrana (RABAAN *et al.*, 2023).

Os fungos patogênicos respondem eficazmente a esses agentes antifúngicos disponíveis. Ainda assim, com o uso prolongado dessas drogas e devido a alguns fatores externos, pode ocorrer a seleção de linhagens resistentes, resultando em nenhuma melhora no indivíduo infectado mesmo após o tratamento. Outros fatores, como sistema imunológico defeituoso do hospedeiro, baixa atividade antifúngica e características fúngicas específicas, como tolerância e resistência antifúngica, também foram elucidados como fatores críticos na promoção da resistência aos medicamentos antifúngicos ou na falha do tratamento antifúngico (RABAAN *et al.*, 2023). Estudos recentes estabeleceram que os fungos patogênicos adquiriram vários mecanismos adaptativos para alcançar resistência aos medicamentos antifúngicos, como alteração do local alvo do medicamento, superexpressão do alvo, regulação positiva dos transportadores multidrogas, formação de biofilme, permeabilidade celular e resposta ao estresse (RABAAN *et al.*, 2023).

Ao analisar as diferentes amostras isoladas pelo setor de Micologia do LSC constatou-se que cerca de 70% dos exames solicitados pelos médicos dermatologistas são para diagnóstico de micoses cutâneas. A faixa etária dos pacientes mais atendidos no LSC foi de 27 a 61 anos com média de 44 anos e predominância do sexo feminino e isso pode ser explicado pelo fato

das mulheres se preocuparem mais com a aparência e procurarem atendimento dermatológico mais frequentemente. A faixa etária mais frequente no LSC, 57- 80 anos, mostra que idosos tem maior acometimento de infecções fúngicas e quando associados a comorbidades tais como a diabetes, psoríase, líquen plano, câncer ou outras condições pré-disponentes como a exposição a umidade frequente, convivência com animais de estimação, uso de sapato fechado, tabagismo e traumas podem facilitar o contágio e fazer a prevalência das infecções micóticas aumentar.

Quanto ao sítio anatômico da lesão, o estudo demonstrou que as unhas tiveram maior frequência, 90 amostras (67,66%), sendo que as unhas dos pés foram os locais mais acometidos, totalizando 79 amostras (59,39%) com envolvimento especialmente dos halux direito e esquerdo, com prevalência do direito e as unhas das mãos corresponderam a 11 amostras (8,27%). Na região dos pés obtivemos 17 amostras (12,78%), a região do tronco, cervical, lombar, etc totalizaram 12 amostras (9,02%), 03 amostras da região da virilha (2,25%), 01 amostra do couro cabeludo (0,75%), 01 amostra da coxa (0,75%) e outras 09 amostras de diferentes locais da pele (axila, braço, cotovelo, etc) compreendendo 6,79%.

No presente estudo foram realizados 132 EMD, com 90 positivos correspondendo a 68,18% e a prevalência de positividade nos homens foi de 58,88% enquanto nas mulheres foi de 41,11%. Foram realizadas 112 culturas fúngicas com 76 positivas (67,85%), sendo que os homens tiveram 75,67% de positividade enquanto as mulheres tiveram 65,82%. A literatura indica que a taxa de positividade do KOH varia entre 35,6% e 88,6%, e a taxa de positividade da cultura entre 36% e 53,6% (TAHILIANI, *et al.*,2021), corroborando com os dados obtidos em nosso estudo.

As unhas dos pés foram acometidas por dermatófitos na frequência de 57,44%, seguido por leveduras em 21,27% e fungos filamentosos não dermatófitos (FFND) em 8,51%, enquanto nas unhas das mãos as leveduras do gênero *Candida* tiveram a prevalência de 66,66% e os fungos filamentosos não dermatófitos de 33,33%. Ainda, não houve crescimento de

dermatófitos nas amostras provenientes de unhas das mãos. Entretanto, na tinea pedis, os dermatófitos tiveram prevalência de 82,35%. Outros grupos de pesquisa relataram frequências semelhantes (BRITO *et al.*, 2023). Dentre as infecções fúngicas que acometem as unhas, quase 50% são causadas por dermatófitos. Estima-se que a tinea pedis esteja presente em 30 a 70% da população mundial. A condição é causada principalmente por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* e *Epidermophyton floccosum* (PETRUCCELLI *et al.*, 2020).

No presente estudo, entre os dermatófitos identificados, *T. rubrum* foi o agente etiológico com maior frequência (61,90%) seguido de *T. mentagrophytes* (26,19%), *Trichophyton* spp. (7,14%) e *M. canis* (4,76%), corroborando com outros estudos regionais que relatam frequências semelhantes (SANGUINO; JARROS; NEGRI, 2019; BRITO *et al.*, 2023). Além disso, observou-se também nesse trabalho que os fungos dermatófitos tiveram maior prevalência nos homens (54,76%) que nas mulheres (45,23%) e esses resultados também foram vistos por outros autores (PETRUCCELLI *et al.*, 2020).

Nesse estudo, em 03 pacientes (13,16 e 25), foram realizadas novas coletas de amostras com repetição dos EMD e da CF e espécies de *Candida*, FFND e dermatófitos tiveram crescimento como agentes de infecção e/ou colonização dos sítios anatômicos e isso mostra a importância da coleta na recuperação do provável agente causador da dermatomicose. Os fungos dermatófitos são considerados patogênicos, no entanto, os FFND podem ser considerados agentes colonizadores e, portanto, contaminantes, e o resultado da cultura quando repetida reduz essa probabilidade (SANGUINO; JARROS; NEGRI, 2019).

Nas regiões anatômicas do tronco, cervical e lombar, o EMD detectou positividade para a levedura *Malassezia* em 66,66% dos pacientes com predomínio de 62,5% nos homens. Esses achados podem estar relacionados à maior secreção das glândulas sebáceas no sexo masculino (KHODADADI *et al.*, 2021). Entretanto, para apenas 01 paciente foi solicitada a cultura e isso pode ser correlacionado a casos clínicos mais complexos para análise da viabilidade fúngica

quando não há melhora do quadro clínico (OLIVEIRA *et al.*, 2023). A Pitiríase versicolor, dermatomicose muito difundida em todo mundo é causada por espécies de *Malassezia*. Os dermatologistas habitualmente não solicitam a cultura de fungos para esse diagnóstico. Por se tratar de fungo lipofílico, de difícil recuperação laboratorial nos meios de cultivo habituais no LSC enriquece-se o ASD e AM com 1% de azeite de oliva esterelizado para favorecer o crescimento das espécies (LACAZ *et al.*, 2002). As espécies de *Malassezia* spp. são da microbiota da pele humana. Identificar a levedura *Malassezia* em nível de espécie não tem muito valor para definir o tratamento (KHODADADI *et al.*, 2021).

Em pacientes com suspeita de micoses cutâneas associadas ao Eritrasma, infecção bacteriana causada por *Corynebacterium minutissimum*, os especialistas solicitaram concomitantemente ao EMD e/ou CF a pesquisa dessa bactéria pela bacterioscopia ao Gram e nesse estudo tivemos 04 solicitações com 02 casos positivos, 01 associado a *T. rubrum* e 01 à *Candida pelliculosa* (03, 62), ambos homens e detectados na região da virilha. Vários fatores aumentam a predisposição ao eritrasma, como região geográfica, hiperidratação, falta de higiene, diabetes, idade avançada e obesidade. O eritrasma é uma condição comum e pode ser diagnosticado erroneamente com tinea cruris, PV e candidíase (KHODADADI *et al.*, 2021). Foram visualizados a presença dos bacilos Gram positivos, difteróides, irregulares e filamentosos sugestivos da espécie (LACAZ *et al.*, 2002). As outras solicitações foram na região anatômica da axila e estavam negativos.

Todos os fungos dermatófitos do nosso estudo que foram testados com antifúngicos apresentaram CIM $\leq 0,06$ $\mu\text{g/mL}$ de Itraconazol (intervalo de 0,03 – 16 $\mu\text{g/mL}$), CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$ de Fluconazol (intervalo de 0,125 – 64 $\mu\text{g/mL}$) e CIM $\leq 0,015$ $\mu\text{g/mL}$ de Terbinafina (intervalo de 0,015 – 8 $\mu\text{g/mL}$). A ausência de pontos de corte da CIM para categorizar o isolado como suscetível, intermediário ou resistente a um agente antifúngico é uma limitação da técnica. Entretanto, corroboramos os resultados com a melhora clínica apresentada por 41% dos

pacientes que fizeram adesão ao tratamento, principalmente usando o itraconazol ou a terbinafina, associados ou não a antifúngicos tópicos. A terbinafina, um agente antifúngico do grupo das alilaminas, é fungicida. Por outro lado, itraconazol e fluconazol são fungistáticos e têm mais efeitos colaterais potenciais e interações medicamentosas do que a terbinafina (LEUNG *et al.*, 2020). Avaliando os efeitos de medicamentos antifúngicos orais para o tratamento de onicomicose descobriu-se que a terbinafina leva a melhores taxas de cura clínica e micológica do que outros tratamentos (LEUNG *et al.*, 2020). Antifúngicos orais, quando usados em combinação com antifúngicos tópicos, aumentam a taxa de cura. Agentes antifúngicos tópicos comumente usados incluem efinaconazol (Jublia, Clenafin) (solução de unha a 10%), tavaborole (Kerydin) (solução de unha a 5%), ciclopirox (Ciclodan, Penlac, Loprox) (8% de esmalte ou hidrolaca), amorolfina (Curanail, Loceryl, Locetar, Odenil), (5% de verniz para unhas) e terbinafina (Lamisil) (solução para unhas a 10%) (LEUNG *et al.*, 2020). Além disso, são necessários estudos de testes de suscetibilidade a antifúngicos com outras moléculas, como o ciclopirox. (TAHILIANI *et al.*, 2021).

Em relação ao AFST para as espécies de *Candida*, a maioria dos isolados apresentaram CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$ de Itraconazol (intervalo de 0,03 – 16 $\mu\text{g/mL}$), exceto 01 isolado de *C. albicans* com CIM = 16 $\mu\text{g/mL}$. Para o Fluconazol (intervalo de 0,125 – 64 $\mu\text{g/mL}$) a maioria das espécies apresentou CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$, com isolados de *C. albicans* e *C. guilliermondii* apresentando CIM = 8 $\mu\text{g/mL}$. Todas as espécies testadas para a Nistatina (intervalo de 0,02 – 15 $\mu\text{g/mL}$) apresentaram CIM $\leq 3,75$ $\mu\text{g/mL}$. O padrão de suscetibilidade de várias espécies de *Candida* também pode variar dependendo da exposição prévia a medicamentos antifúngicos, estado de saúde do paciente afetado, local de isolamento e localização geográfica (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020).

De acordo com as diretrizes de interpretação dos AFST *in vitro* do CLSI para as espécies de *Candida* (Norma Aprovada M27 – A2), a resistência ao Fluconazol é definida como valores

MIC > 8 µg/mL para *C. albicans* e para outras espécies a CIM ≥ 64 µg/mL. Para o Itraconazol os valores para a definição de resistência da CIM é ≥ 1 µg/mL e *C. albicans* apresentou resultado acima do valor de corte (CIM = 16 µg/mL). Embora a resistência aos azóis de isolados virgens de *C. albicans* seja rara, um aumento constante nos relatos de resistência aos azóis, resultando em falhas terapêuticas, tem sido motivo de séria preocupação clínica (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020).

O teste de suscetibilidade *in vitro* de leveduras e bolores ajuda não apenas na seleção do agente antifúngico mais clinicamente ativo, mas também na detecção de taxas de resistência. O CLSI e o EUCAST desenvolveram métodos de referência para detectar a resistência *in vitro* de leveduras e bolores contra vários agentes antifúngicos (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020). A resistência pode ser classificada como microbiológica ou clínica. A resistência microbiológica ocorre quando a concentração de agente antifúngico necessária para inibir o crescimento do patógeno é maior do que a faixa observada para as cepas devido à presença de mecanismos de resistência mutacionais evoluídos ou inatos. A resistência clínica, por outro lado, é denotada pela falha terapêutica, apesar da administração de doses adequadas do antifúngico (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020).

Efeitos mistos na expressão do transportador PDR (*Pleiotropic Drug Resistance*) e na estabilização do mRNA foram previamente caracterizados em isolados de *C. albicans* resistentes a azóis. Em qualquer caso, é importante notar que a superexpressão de transportadores de efluxo de múltiplas drogas interfere na homeostase celular geral, provavelmente por interferir com metabólitos intracelulares adequados. Portanto, só surge após uma forte seleção na presença de agentes antifúngicos (OSSET-TRÉNOR; PASCUAL-AHUIR; PROFT, 2023).

Vários medicamentos antifúngicos (azóis, equinocandinas) têm como alvo direto enzimas essenciais específicas do patógeno, como Erg11/Cyp51, Fks1, Gwt1 ou DHODH.

Portanto, alterações conformacionais na enzima-alvo causadas por mutações que levam ao decréscimo no reconhecimento da droga, mantendo a atividade enzimática suficiente, são possíveis fontes de resistência adquirida. Mutações no gene *ERG11(CYP51)* são um mecanismo comum de resistência a azóis em *Candida albicans*, alterando a inibição da enzima lanosterol demetilase (OSSET-TRÉNOR; PASCUAL-AHUIR; PROFT, 2023). O efeito dessas mutações, mais de 140 descritas até o momento, não é uniforme e provavelmente é o resultado de uma redução geral da afinidade de ligação de azol à enzima mutante. A documentação de novas mutações *ERG11* em isolados clínicos resistentes a azóis continua a aparecer, mas nem todas as mutações documentadas foram definitivamente demonstradas como ligadas à resistência a azóis (OSSET-TRÉNOR; PASCUAL-AHUIR; PROFT, 2023).

Testes de suscetibilidade antifúngica são realizados para fungos que causam doenças, especialmente quando as infecções são invasivas, recidivantes ou com falha na terapia, quando a resistência inerente ou adquirida é uma possibilidade, ou quando a suscetibilidade não pode ser prevista com segurança apenas pela identificação da espécie. O AFST também é importante na vigilância da resistência, em estudos epidemiológicos e para comparação da atividade *in vitro* de agentes novos e existentes (ARENDRUP *et al.*, 2021). Os AFST são considerados um procedimento especializado e está disponível apenas em alguns laboratórios. As infecções fúngicas são, portanto, comumente tratadas sem recurso a testes de suscetibilidade antifúngica, seja na prática médica geral ou dermatológica. Isso tem sido costume e prática há muitos anos, apesar do fato da falha do tratamento antifúngico ser encontrada regularmente, particularmente no manejo da onicomicose, na qual a falha do tratamento geralmente está ligada a outros fatores, como má penetração do medicamento na lâmina ungueal infectada, má adesão ou metabolismo alterado do fármaco devido a terapias concomitantes (KHAN; HAY; SAUNTE, 2022).

As infecções fúngicas dermatológicas são comumente mal interpretadas como um problema cosmético, mas se não tratadas podem causar dor, comprometimento físico e

emocional. Recentemente, a OMS publicou uma lista de patógenos fúngicos prioritários causadores de infecções sistêmicas invasivas, neste relatório, eles sugerem que relatórios futuros incluam aqueles que causam dermatomicoses, destacando o impacto econômico e de saúde dos mesmos (POWELL *et al.*, 2023).

7. CONCLUSÕES

Montes Claros é a maior cidade do norte de Minas Gerais, encontra-se em constante desenvolvimento favorecendo a migração de pessoas de diferentes origens para a região e isso pode implicar na epidemiologia das infecções fúngicas. Os resultados do presente estudo permitiram o conhecimento da epidemiologia das micoses cutâneas na região, a distribuição dos agentes etiológicos e os padrões de suscetibilidade aos antifúngicos. A pesquisa evidenciou que as micoses cutâneas estão entre as infecções fúngicas mais solicitadas e, portanto, de maior ocorrência no LSC, sendo as unhas a área mais afetada e os fungos dermatófitos, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* os mais prevalentes seguidos dos fungos leveduriformes e FFND.

O resultado desse estudo mostrou que a maioria dos participantes (>80%) possuía convênio médico diferente do Sistema Único de Saúde (SUS), que representou apenas 9,63%, e por isso o estudo pode não ser totalmente representativo da população. Em muitos casos, a demora em consultar-se com especialista pode aumentar o uso indiscriminado de antifúngicos e o tempo de infecção, dificultando o diagnóstico e o tratamento das infecções fúngicas, constituindo um importante problema de saúde pública com grande impacto na saúde e bem estar dos pacientes.

Nesse estudo observamos que os antifúngicos mais prescritos pelos médicos foram a terbinafina e o itraconazol usados isolados ou associados ao Loceryl (alморolfina) ou Ciclopirox Olamina nas onicomicoses. O Cetoconazol foi bastante indicado no tratamento da pitiríase versicolor de forma tópica ou oral associados ao uso do Hipossulfito de sódio a 40%.

Entre os pacientes que tiveram cultura positiva para dermatófitos os dados de acompanhamento mostraram que 41% aderiram ao tratamento médico e tiveram melhora clínica. Esses pacientes responderam à terapia com terbinafina ou itraconazol apresentando melhora clínica do quadro depois de 2 ou 3 semanas de tratamento. Observou-se também que os resultados devem ser analisados observando que 20,50% desses pacientes faziam uso tópico e/ou oral de antifúngicos no momento da coleta, o que pode ter contribuído para aumentar o percentual de culturas negativas caracterizando resultados falsamente negativos.

Observamos ainda um decréscimo no número de pacientes infantis com tinea capitis durante e após a pandemia do Covid 19. Entretanto, durante a realização da pesquisa foram registrados 4 casos cujo agente causador foi *M. canis*, embora somente em um deles foi autorizada a participação na pesquisa. Tivemos também durante a pesquisa um caso de *Trichosporon beigelli* isolado de pelo com a presença de estruturas características de piedra branca em que também não foi autorizada a participação na pesquisa.

Esse trabalho permitiu ao LSC estabelecer metodologias de trabalho adequadas desde a coleta das diferentes amostras biológicas até a identificação dos agentes etiológicos, criar documentos contendo os POPs e capacitar profissionais que possam manter o padrão de qualidade estabelecido nos processos técnicos laboratoriais. E finalmente, esse trabalho mostrou que o LSC, ao implementar melhorias e atualizações no serviço prestado, pode proporcionar ao profissional médico importante ferramenta de diagnóstico para auxílio no tratamento dos seus pacientes além de apresentar dados que possam nortear na região, condutas na prevenção das infecções fúngicas e das resistências emergentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARENDRUP, M. C. *et al.* How to: perform antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes following the new reference EUCAST method E.Def 11.0, exemplified by *Trichophyton*. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 55–60, 2021.
- BEGUM, J. *et al.* Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis. **Journal of basic microbiology**, v. 60, n. 4, p. 293–303, 2020.
- BERMAN, J.; KRYSAN, D. J. Drug resistance and tolerance in fungi. **Nature reviews. Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 319–331, 2020.
- BRITO, S. C. P. *et al.* Spatio-temporal six-year retrospective study on dermatophytosis in Rio de Janeiro, Southeast Brazil: A tropical tourist locality tale. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 17, n. 4, p. e0010865, 2023.
- CASTRO, M. DA C. A. *et al.* Distribuição, fatores de risco e suscetibilidade antifúngica de espécies *Candida* isoladas da corrente sanguínea de pacientes críticos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e54710716731, 2021.
- CHANYACHAILERT, P.; LEEYAPHAN, C.; BUNYARATAVEJ, S. Cutaneous fungal infections caused by dermatophytes and non-dermatophytes: An updated comprehensive review of epidemiology, clinical presentations, and diagnostic testing. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 6, p. 669, 2023.
- CLSI. CLSI-M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard-Second Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, vol. M38-A2, 2008. Available at: www.clsi.org.
- CLSI. M27Ed4: Broth Dilution Antifungal Susceptibility, Yeasts. 2017. Available at: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m27/>.
- DE ALBUQUERQUE MARANHÃO, F. C. *et al.* Mycoses in northeastern Brazil: epidemiology and prevalence of fungal species in 8 years of retrospective analysis in Alagoas. **Brazilian journal of microbiology**, v. 50, n. 4, p. 969–978, 2019.
- DE HOOG, G. S. *et al.* Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, p. 5–31, 2017.
- DHOOT, D. *et al.* Management of dermatophytosis: Real-world Indian perspective. **Indian dermatology online journal**, v. 14, n. 3, p. 347, 2023.
- GHANNOUM, M. *et al.* Examining the importance of laboratory and diagnostic testing when treating and diagnosing onychomycosis. **International journal of dermatology**, v. 57, n. 2, p. 131–138, 2018.
- HANDA, S. *et al.* No evidence of resistance to itraconazole in a prospective real-world trial of dermatomycosis in India. **PloS one**, v. 18, n. 2, p. e0281514, 2023.

- KAINZ, K. et al. Fungal infections in humans: the silent crisis. **Microbial cell (Graz, Austria)**, v. 7, n. 6, p. 143–145, 2020.
- KHAN, S. S.; HAY, R. J.; SAUNTE, D. M. L. A review of antifungal susceptibility testing for dermatophyte fungi and its correlation with previous exposure and clinical responses. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 12, p. 1290, 2022.
- KHODADADI, H. *et al.* Prevalence of superficial-cutaneous fungal infections in Shiraz, Iran: A five-year retrospective study (2015–2019). **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 35, n. 7, 2021
- LACAZ, Carlos da Silva *et al.* **Tratado de micologia médica Lacaz**. 9ª edição. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104P.
- LEE, W.-T. J. *et al.* Epidemiology of dermatologic disease in Palau: a cross-sectional study in the national public and community health service. **International journal of dermatology**, v. 61, n. 7, p. 833–840, 2022.
- LEUNG, A. K. C. *et al.* Onychomycosis: An updated review. **Recent patents on inflammation & allergy drug discovery**, v. 14, n. 1, p. 32–45, 2020.
- MACHADO, G. S.; DALMOLIN, T. V.; BRANDÃO, F. *Candida auris* – fungo emergente que ameaça a saúde global. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9673–9681, 2021.
- MARTINEZ-ROSSI, N. M. *et al.* State-of-the-art dermatophyte infections: Epidemiology aspects, pathophysiology, and resistance mechanisms. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 8, p. 629, 2021.
- MARTINS-SANTANA, L. *et al.* Addressing microbial resistance worldwide: Challenges over controlling life-threatening fungal infections. **Pathogens**, v. 12, n. 2, p. 293, 2023.
- MEZZARI, A. *et al.* Prevalência de micoses superficiais e cutâneas em pacientes atendidos numa atividade de extensão universitária. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 21, n. 2, p. 151–156, 2017.
- MOSKALUK, A. E.; VANDEWOUDE, S. Current topics in dermatophyte classification and clinical diagnosis. **Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 957, 2022.
- MUSHTAQ, S. *et al.* Impact on quality of life in patients with dermatophytosis. **The Australasian journal of dermatology**, v. 61, n. 2, 2020.
- NISHIMOTO, A. T.; SHARMA, C.; ROGERS, P. D. Molecular and genetic basis of azole antifungal resistance in the opportunistic pathogenic fungus *Candida albicans*. **The journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 75, n. 2, p. 257–270, 2020.
- OLIVEIRA, M. *et al.* Clinical manifestations of human exposure to fungi. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 3, p. 381, 2023.
- OSSET-TRÉNOR, P.; PASCUAL-AHUIR, A.; PROFT, M. Fungal drug response and antimicrobial resistance. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 5, 2023.

PADHIYAR, J. *et al.* Psychosocial and financial impact of disease among patients of dermatophytosis, a questionnaire-based observational study. **Indian dermatology online journal**, v. 11, n. 3, p. 373, 2020.

PERES, N. T. DE A. *et al.* Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657–667, 2010.

PETRUCELLI, M. F. *et al.* Epidemiology and diagnostic perspectives of dermatophytoses. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 4, p. 310, 2020.

POWELL, J. *et al.* Dermatology mycology diagnostics in Ireland: National deficits identified in 2022 that are relevant internationally. **Mycoses**, v. 66, n. 3, p. 249–257, 2023.

RABAAN, A. A. *et al.* Potential strategies to control the risk of antifungal resistance in humans: A comprehensive review. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 3, p. 608, 2023.

RUDRAMURTHY, S. M. *et al.* Comprehensive taxonomical analysis of *Trichophyton mentagrophytes/interdigitale* complex of human and animal origin from India. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 5, p. 577, 2023.

SANGUINO, T. C.; JARROS, I. C.; NEGRI, M. Occurrence of dermatophytoses in patients from the Sistema Único de Saúde. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 94, n. 3, p. 293–297, 2019.

SAUNTE, D. M. L. *et al.* Emerging terbinafine resistance in *Trichophyton*: Clinical characteristics, squalene epoxidase gene mutations, and a reliable EUCAST method for detection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 10, p. e01126-19, 2019.

SAUNTE, D. M. L. High speed and reproducibility in routine diagnostics of superficial fungal infections. **The British journal of dermatology**, v. 180, n. 6, p. 1298–1299, 2019.

SEGAL, E.; ELAD, D. Human and Zoonotic Dermatophytoses: Epidemiological Aspects. **Frontiers in microbiology**, v. 12, 2021.

SINGULANI, J. L. *et al.* COVID-19 and candiduria: an investigation of the risk factors and immunological aspects. **Brazilian journal of microbiology**, v. 54, n. 3, p. 1783–1793, 2023.

SINGULANI, J. L. *et al.* The impact of COVID-19 on antimicrobial prescription and drug resistance in fungi and bacteria. **Brazilian journal of microbiology**, v. 53, n. 4, p. 1925–1935, 2022.

TAHILIANI, S. *et al.* Etiological prevalence and antifungal sensitivity patterns of dermatophytosis in India – A multicentric study. **Indian journal of dermatology, venereology and leprology**, v. 87, n. 800, p. 800–806, 2021.

UHRLASS, S. *et al.* *Trichophyton indotineae*—an emerging pathogen causing recalcitrant dermatophytoses in India and worldwide—A multidimensional perspective. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 7, p. 757, 2022.

VERMA, S. B. *et al.* The unprecedented epidemic-like scenario of dermatophytosis in India: II. Diagnostic methods and taxonomical aspects. **Indian journal of dermatology, venereology and leprology**, v. 87, n. 326, p. 326–332, 2021.

WIEDERHOLD, N. P. Antifungal susceptibility of yeasts and filamentous fungi by CLSI broth microdilution testing. Em: **Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer US, 2023. v. 2658p. 3–16

ANEXOS

Anexo 1	Parecer Comitê de ética em pesquisa
Anexo 2	Ficha de identificação LSC
Anexo 3	Instruções para coleta de amostras para exame micológico no LSC
Anexo 4	Questionário para micoses cutâneas no LSC
Anexo 5	Declaração da chefia do LSC
Anexo 6	Termo de anuência da instituição coparticipante
Anexo 7	Declaração da instituição coparticipante
Anexo 8	Aprovação do projeto em Câmara do Departamento de Microbiologia
Anexo 9A	TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Anexo 9B	TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (12 a 17 anos)
Anexo 9C	TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (menores de 12 anos)
Anexo 9D	TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (responsável por menor)
Anexo 9E	TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (funcionários)
Anexo 9F	TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (médicos)
Anexo 10	Termo de autorização de uso de imagem
Anexo 11	Planilha de coleta de dados
Anexo 12	TCUD - Termo de Compromisso de Utilização de Dados
Anexo 13	Termo de Consticuição de Biorrepositório
Anexo 14	Procedimento Operacional Padrão (POP) LSC – Exame Micológico Direto
Anexo 15	Procedimento Operacional Padrão (POP) LSC – Cultura para fungos
Anexo 16	Manual de Identificação de Fungos
Anexo 17	Levantamento da necessidade de treinamento da equipe
Anexo 18A	Registro de treinamento interno
Anexo 18B	Registro de treinamento interno de unidade
Anexo 19	Controle interno de qualidade – comparativo interno
Anexo 20A	Controle interno de qualidade 2022
Anexo 20B	Controle externo de qualidade 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG

Pesquisador: Nalu T A Peres

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 60910722.7.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.759.082

Apresentação do Projeto:

O projeto tem como objetivo atualizar e o aperfeiçoar todas as etapas do diagnóstico laboratorial dos exames micológicos desde a coleta até o isolamento e identificação dos agentes etiológicos causadores das micoses cutâneas no Laboratório Santa Clara em Montes Claros, MG. Antes da coleta das amostras os procedimentos operacionais (POPs) de coleta de amostras, exame micológico e cultura de fungos serão revisados e será realizado treinamentos com os profissionais da coleta de amostras e setor técnico para que atualizem a metodologia e consigam preencher adequadamente formulários criados para registro das informações coletadas no momento da entrevista com os pacientes. As amostras coletadas serão submetidas ao exame micológico direto e ao cultivo e também serão coletadas as informações registradas nas descrições dos casos clínicos nos pedidos médicos dos exames. Além disso, também serão registradas características relevantes diante da observação visual da lesão no momento da coleta. Entre as informações que se pretende coletar estão o tempo e aparência da lesão, uso de medicamento tópico ou oral, realização de exames anteriores, entre outras. Os pesquisadores irão visitar os principais médicos solicitantes que, em caso de estabelecimento de parceria no desenvolvimento do trabalho, repassarão informações adicionais sobre o uso dos antifúngicos, feedback da adesão ao tratamento e resposta clínica, bem como tratamentos anteriores.

Análises laboratoriais: O exame micológico direto das amostras coletadas é feito por microscopia

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2 Sala 2005 2 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.759.082

direta. Para a realização da cultura para fungos os meios de cultivo serão preparados no setor de Microbiologia/Micologia, utilizando os meios de cultura Sabouraud, preparados de acordo com a orientação do fabricante. A identificação das espécies fúngicas será realizada pela análise macroscópica das colônias (aspecto, textura, pigmentação e coloração da colônia e do reverso) e análise microscópica direta da colônia ou pela técnica do microcultivo em lâmina quando necessário (Técnica de Ridell) para fungos filamentosos (dermatófitos e não dermatófitos) e leveduras. Após incubação à temperatura ambiente por 48 a 72 horas, as lamínulas são retiradas e observadas sob coloração com azul de algodão e visualizadas ao microscópio para verificação das estruturas de reprodução, análise da presença de hifas, pseudohifas, formato e disposições dos blastoconídeos, etc. Após a identificação das espécies encontradas realizar-se-á o antifungigrama dos isolados pela técnica de microdiluição em caldo para estabelecer a concentração inibitória mínima (CIM). Com os registros dos resultados das etapas anteriores realizaremos as análises estatísticas dos dados obtidos com elaboração de planilhas para apresentação dos resultados do estudo epidemiológico local.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: “O Objetivo geral deste projeto é atualizar as etapas do diagnóstico laboratorial em Micologia e conhecer o perfil epidemiológico dos agentes causadores de micoses cutâneas em pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara, na cidade de Montes Claros-MG.”

Objetivo Secundário: “Os objetivos específicos são: - Revisar as técnicas laboratoriais de coleta das diferentes amostras clínicas, do cultivo e identificação das espécies fúngicas causadoras de micoses cutâneas. - Atualizar os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) e implementar melhoria dos exames micológicos dentro dos parâmetros de qualidade. - Treinar equipes de coletas e colaboradores técnicos nas atualizações dos procedimentos operacionais. - Isolar e identificar os agentes de micoses cutâneas. - Determinar o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos fluconazol, itraconazol, terbinafina e griseofulvina para os dermatófitos, além da nistatina para as espécies de Candida. - Estabelecer o perfil epidemiológico das espécies e correlacionar com idade, gênero, ocupação, diabetes, psoríase, fumantes, condições sócio- econômicas, etc. - Acompanhar a resposta clínica aos tratamentos.”.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios informados pelos pesquisadores no TCLE são:

Riscos: “No momento da coleta, os riscos de ferimento são mínimos, mas pode acontecer no

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 *ç* 2º. Andar *ç* Sala 2005 *ç* Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.759.082

momento da raspagem do material ou durante o uso do alicate e serão minimizados por compressão e se necessário será realizado um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.” e “Se se sentir desconfortável o Sr(a) poderá pausar o preenchimento, não responder ou desistir da participação na pesquisa sem qualquer prejuízo.”

Benefícios: “Essa pesquisa gerará resultados que demonstrarão a prevalência das micoses cutâneas regionais correlacionadas com características relacionadas à ocupação, estilo de vida, uso de medicamentos e outros aspectos que, relacionados à prevalência dessas micoses, permitirão melhor atendimento aos pacientes e exames que permitam auxiliar no diagnóstico e tratamento médico das infecções fúngicas contribuindo assim para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.”

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo importante e com o mérito científico aprovado pelo Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. De acordo com os pesquisadores, a metodologia proposta proporciona baixo grau de risco aos participantes e, desse modo, analisando os riscos-benefícios relatados no projeto, não foram observados motivos que impeçam sua realização.

Segundo os pesquisadores haverá uso de fontes secundárias de dados: “Serão coletadas informações registradas nas descrições dos casos clínicos nos pedidos médicos dos exames. Entre os dados que se espera coletar estão o tempo e aparência da lesão, uso de medicamento tópico ou oral, realização de exames anteriores. Também realizaremos visita aos principais médicos solicitantes que, em caso de estabelecimento de parceria no desenvolvimento do trabalho, nos possibilitarão obter informações adicionais sobre o uso dos antifúngicos, feedback da adesão ao tratamento e resposta clínica, bem como tratamentos anteriores.”

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- O TCLE e TALE deverá ser modificado para atender a Resolução 466/2012.
- Os demais termos encaminhados pelos pesquisadores estão adequados.

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 *ç* 2º. Andar *ç* Sala 2005 *ç* Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.759.082

Recomendações:

No TCLE dos pais ou responsáveis:

- Os pesquisadores devem informar aos participantes no TCLE a possibilidade do seu médico ser procurado para colaborar na pesquisa, repassando informações sobre o caso clínico e tratamento (semelhante ao realizado nos outros TCLEs).

No TALE:

- Informar ao participante que, caso ele concorde, poderá ser realizado o registro fotográfico das lesões (semelhante aos outros TCLEs). Esse assunto não foi mencionado no TALE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Na condição dos pesquisadores atenderem as recomendações presente neste parecer, somos, s.m.j. dos demais membros do CEP-UFMG, favoráveis à aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES BÁSICAS_DO_PROJETO_1958261.pdf	07/11/2022 11:07:04		Aceito
Outros	Termoautorizacaousodeimagens.pdf	07/11/2022 11:04:37	Nalu T A Peres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsavelpormenor.pdf	07/11/2022 11:03:31	Nalu T A Peres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEfuncionario.pdf	07/11/2022 11:03:04	Nalu T A Peres	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 \imath 2º. Andar \imath Sala 2005 \imath Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.759.082

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMedico.pdf	07/11/2022 11:02:38	Nalu T A Peres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	07/11/2022 11:00:20	Nalu T A Peres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE12a17anos.pdf	07/11/2022 10:59:35	Nalu T A Peres	Aceito
Outros	Cartarespostapendencias.pdf	05/10/2022 20:02:07	Nalu T A Peres	Aceito
Outros	QuestionarioMicoses.pdf	05/10/2022 19:57:51	Nalu T A Peres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEParticipante.pdf	05/10/2022 19:57:15	Nalu T A Peres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Participacaoinstituicao.pdf	05/10/2022 19:55:31	Nalu T A Peres	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	05/10/2022 19:53:01	Nalu T A Peres	Aceito
Outros	Aprovacao.pdf	25/07/2022 11:41:22	Nalu T A Peres	Aceito
Outros	Parecer.pdf	25/07/2022 11:40:29	Nalu T A Peres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMC.pdf	22/07/2022 13:35:23	Nalu T A Peres	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	22/07/2022 13:32:21	Nalu T A Peres	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 \imath 2º. Andar \imath Sala 2005 \imath Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 5.759.082

BELO HORIZONTE, 16 de Novembro de 2022

Assinado por:

**Críssia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))**

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 *ç* 2º. Andar *ç* Sala 2005 *ç* Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

FICHA DE RESULTADO - Santa Clara - Matriz

Protocolo Principal: 01-585401

Protocolo: 01-585401 DATA: 22/05/2023 HR: 11:41 HC: : CONVENIO: CORTESIA /UNICO

PACIENTE : TESTE IDADE: 33 ANOS 01/01/1990 SEXO: F
 MEDICO : _____ (38) 3221-4899 OPERADOR: BIBM
 MATERIAL : HALUX 1° UNHA DO PÉ ESQUERDO, E-mail:
 EXAMES : FUN C, MICO D,
 ENTREGA : 25/05/2023 AS 17:00 H Classificação: FONE:
 OBSERVACAO :
 COL: _____ I. Inicial ___/___/____ I. Final: _____ IMP: 22/05/2023 11:46:06



Taxa Extra	Desconto	Total	Sinal	A Pagar
R\$0,00	R\$0,00	R\$0,00	R\$0,00	R\$0,00

MICOLOGICO DIRETO - HALUX 1° UNHA DO PÉ ESQUERDO

FUNGOS (CULTURA) - HALUX 1° UNHA DO PÉ ESQUERDO



Coleta de amostras para exames Micológicos

(Exame micológico direto e cultura para fungos)

Amostras: pele, pelo e unhas:

A coleta adequada da amostra aumenta a positividade e segurança dos exames micológicos e a completa descrição da lesão fornece informações adicionais que auxilia a área técnica na realização dos exames e correlação de dados e por isso recomendamos que:

Pele:

- No dia da coleta o paciente pode tomar banho normalmente.
- Seguir sempre a orientação médica.
- O paciente não deverá estar em uso de medicamento antifúngico oral por 15 dias ou tópico por 7 dias antes da coleta.
- Evitar o uso de cremes hidratantes, pomadas, protetor solar ou qualquer outro produto oleoso no dia do exame, pois dificulta a detecção das estruturas fúngicas.
- Lavar e secar os pés no dia da coleta e ir ao laboratório com calçado fechado.
- Pode ser usado o álcool a 70% para realização da antisepsia em lesões de pele íntegra.

Coleta: As amostras de lesões de pele como escamas ou crostas, devem ser coletadas com a borda da lâmina de vidro nova ou com a lâmina de bisturi descartável. Deve-se coletar raspando em vários pontos da lesão, procurando as bordas das lesões mais recentes onde o fungo se encontra em crescimento ativo e fazer com que a amostra seja depositada numa placa de Petri procurando obter o máximo de material possível. Nos casos em que não há escamas aparentes, procura-se raspar bem o local e após umedecer um swab em soro fisiológico estéril passar no local raspado e lavar em salina estéril.

Lesões vesiculosas e purulentas:

Nas lesões cutâneas com vesículas íntegras (bolhas pequenas) e pústulas (bolhas pequenas inflamadas com pus) pode pressionar com o próprio swab ou usá-lo após perfuração com bisturi (lanceta), recolhendo a amostra em tubo contendo salina estéril. O fragmento das vesículas (pele que cobre as vesículas) deve ser retirado com pinça ou swab e colocado na placa de Petri ou em solução salina.

Se o paciente tiver “frieira” (lesão úmida) entre os dedos dos pés, coletar a amostra com swab acondicionando o material coletado em tubo com salina.

Nas lesões inguinais, inguino-crurais ou axilares, como são regiões de dobras, geralmente encontram-se úmidas, fazendo-se necessária a assepsia com álcool a 70%. Deixar a região secar um pouco e tentar raspar a pele. Coletar com swab e colocar também em salina.

Unhas:

- Retirar o esmalte da unha 2 dias a 3 dias antes da coleta;
- Pode lavar as mãos normalmente com água e sabão neutro mas não se deve cortar, limpar ou pintar as unhas antes da coleta. Caso a unha esteja curta o paciente deverá aguardar 15 dias para o retorno ao laboratório, sem mexer nas unhas.
- Unhas extraídas por processos cirúrgicos ou mesmo com resíduos medicamentosos ou de esmalte são consideradas amostras inadequadas para o exame micológico
- As regiões de onde vão ser coletadas as amostras devem ser limpas preferencialmente com álcool a 70%, para eliminar contaminantes bacterianos superficiais.
- Os fragmentos das unhas alteradas podem ser colhidos com o auxílio de um alicate esterilizado. Verificar se há comprometimento das áreas periungueal e subungueal e coletar também desses locais. O material pode ser retirado cuidadosamente com a ponta do bisturi (lanceta) ou com o próprio alicate estéril. Cuidadosamente raspar a porção externa até obter material de áreas profundas.
- Em casos de paroníquia (lesões na região da cutícula), colhem-se as escamas e, se possível, o pus, com um swab.
- Se as lesões são manchas esbranquiçadas na superfície da unha, raspar por cima com bisturi, removendo as escamas em placa de Petri.

ONICOMICOSE

Distal



Proximal



Superficial



<https://anadademulher.rj.com/saude/paroniquia>

www.mdsaude.com



<https://cosmeticaemfoco.com.br/>

patricia-guarra-podologa.negocio.site

Couro cabeludo e pelos:

- Não lavar o couro cabeludo ou região da barba no dia da coleta nem usar óleos ou outras substâncias oleosas no local nos 3 dias que antecedem a coleta;
As amostras de lesões no couro cabeludo devem ser obtidas através da raspagem do local de alopecia, amostras das lesões descamativas e granulomatosas devem ser colocadas diretamente na placa de Petri. Raspam-se as escamas com lâmina nova. A amostra deve conter tocos de cabelo e as escamas de pele. Os cabelos da área também podem ser puxados com pinça (os cabelos infectados são facilmente removíveis).
Para **pesquisa de Piedra** a lesão é ao longo do cabelo ou pelo e apresenta pequenos nódulos, por isso devem ser cortados com tesoura limpa e acondicionados em placas de Petri.

Ouvido e orelhas:

As infecções fúngicas de ouvido são geralmente secas, exceto quanto associadas a infecções bacterianas.
A raspagem do material descamativo é sempre melhor para o diagnóstico laboratorial, embora o swab também possa ser usado. Umedecer um swab com salina estéril e colher material do conduto auditivo externo e médio. Material advindo do conduto auditivo interno é coletado pelo médico.

Material de origem Ocular (úlcera ou lesão de córnea, humor vítreo, lentes de contato):

Deve ser solicitado meios de culturas ao laboratório e o material retirado das áreas de ulcerações e supurações pelo oftalmologista deve ser inoculado imediatamente nos meios específicos e encaminhado ao laboratório/setor de Microbiologia;
O médico pode solicitar cultura de lentes de contato e, portanto, esse material é entregue ao laboratório pelo paciente e ele deve ser informado que a lente será usada para a realização do exame e portanto, não será devolvido. As secreções da parte interna da pálpebra inferior (desconsiderar secreções superficiais) são coletadas com swab umedecido em salina estéril e colocado em meio de Stuart.

Escarro: Colher preferencialmente pela manhã em jejum, após higiene bucal com água. Fazer inspirações profundas e tossir várias vezes até obter o escarro do fundo do peito e depositar em frasco limpo de boca larga.

Líquidos Corporais (Líquido Cefalorraquidiano (Líquor), Líquido Pleural, Líquido Pericárdico, Líquido Ascítico, Líquido Sinovial, etc.): São coletados por profissionais médicos especializados e encaminhados para o laboratório/setor de Microbiologia após o cadastro.

Sangue: Coletar sangue venoso após antisepsia com álcool a 70% utilizando heparina como anticoagulante.

Amostras subcutâneas (Suspeita de Esporotricose, Micetoma, Cromoblastomicose, etc, fazer contato prévio com o setor de Microbiologia e preferencialmente deve ser coletado na unidade matriz sob orientação):

Preferencialmente a coleta deve anteceder o uso de antifúngico tópico ou sistêmico. Limpar a região da lesão aberta com solução salina (soro fisiológico) e gaze. Raspar e escarificar as lesões crostosas ou verrucosas com lâmina de bisturi e colocar em placa de Petri ou em solução fisiológica.

Aspirado do pus e/ou biópsia (coletados pelo médico), são mais apropriados para o exame. O pus pode ser coletado assepticamente de abscessos não drenados com uma agulha estéril e seringa por profissional médico especializado. Nas lesões ulceradas, caso o material tenha que ser colhido com swab (o que não é recomendado), deve ser retirado da parte mais profunda da lesão, evitando encostar nas bordas e na pele adjacente.

Grãos e pontos negros visíveis na lesão e no pus, devem ser coletados e depositados nos tubos com soro fisiológico.

Notas Importantes!!! Conferir adequadamente o local especificado do sítio da coleta. Atenção: Fazer a completa identificação de cada amostra/sítio coletado.

Fragmento de tecido (biópsia): deve ser encaminhado ao laboratório em frasco com salina estéril (**NUNCA em formol**).

Transporte de raspados e amostras secas: placa de Petri estéril vedada em envelope junto com a solução salina à temperatura ambiente.

Referências Bibliográficas:

BRASIL. Ministério da Saúde. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2013.

<https://www.saude.gov.br/files/lacen/modulo-viii-micologia.pdf>

<https://micologia.com.br>

Formulário de Coleta (Descrição da lesão)

- Descrever a aparência da lesão:
- Qual o tempo da lesão?
- Já fez esse exame antes?
- Se sim, foi no LSC?
- Fez tratamento na época?
- Usou (controle de tratamento) ou usa algum medicamento para o caso (iniciou tratamento)? Qual?
- Descrever o CID ou justificativa médica do PM.
- Qual o tipo de trabalho? Envolve jardinagem, trabalho rural, tem contato com solo, vegetação, madeira, construção ou animais? Tem contato direto com água ou ambientes úmidos, ou outros?
- Fumante? Diabético?
- Tem animal de estimação?

QUESTIONARIO COLETA LSC

1. Número de identificação do paciente:

INFORMAÇÕES

2. Tempo de lesão:

3. Aspecto (aparência da lesão):

4. Medicamento: Usou (controle do tratamento) Usa (iniciar tratamento), qual (is): 1. pomada 2. creme 3. esmalte 4. outros _____5. Tem exame anterior no LSC? Sim Não6. Possui animal de estimação? Apresenta arranhadura? Ferimento de outra origem?

7. Ocupação (tipo de trabalho):

9. Tem diabetes? É fumante? Observar anotações médicas sobre psoríase!

8. CID ou justificativa médica:

Declaração da Chefia

Montes Claros, 22 de maio de 2022

Ao Programa de Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

Prezada Profa. Erna Geessien Kroon,

Eu, Jayme Gusmão Pinheiro tenho a oportunidade como médico e sócio-diretor do Laboratório Santa Clara em Montes Claros-MG de trabalhar com a profissional Farmacêutica Bioquímica, Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga, Coordenadora dos Setores de Microbiologia e Uroanálise, onde desempenha importante trabalho com esmero, competência, seriedade, experiência e grande conhecimento das áreas.

Diante disso recomendo fortemente a candidata ao Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada da UFMG.

Atenciosamente,

Jayme Gusmão Pinheiro

Termo de anuência da Instituição Coparticipante

Ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia

Curso de Mestrado Profissional do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

A Direção do Laboratório Santa Clara tem ciência que a Farmacêutica Bioquímica Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga está inscrita no Programa de Pós Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais e que tem como requisito as disciplinas do referido curso e desenvolvimento do projeto de dissertação para a sua conclusão no Mestrado Profissional em Microbiologia em 2023.

Montes Claros, 20 de maio de 2022

Dr. Jayme Gusmão Pinheiro

CRM 8897 CPF 158.204.756-18

Dr Jayme Gusmão

Sócio-Diretor

Declaração de Instituição Coparticipante:

Instituição Coparticipante: Laboratório Santa Clara

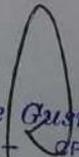
Endereço: Praça Dr. Carlos, 11 Centro

Montes Claros –MG CEP: 39400.000

www.laboratoriosantaclara.com

Esta instituição está ciente de suas responsabilidades como instituição coparticipante do projeto de pesquisa “APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS – MG”, sob responsabilidade da farmacêutica bioquímica Gislaíne Tolentino Saraiva e Alvarenga para dissertação como conclusão do curso de Mestrado em Microbiologia Profissional do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e de seu compromisso para reguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisas nela recrutados, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar. Este estudo será submetido à avaliação do Comitê de Ética e Pesquisa e a autorização dos responsáveis para a inclusão no estudo será obtida pela assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

Montes Claros, 20 de maio de 2022


Dr. Jayme Gusmão Pinheiro
CRM 8897 + CPF 158.204.758-18
Jayme Gusmão Pinheiro

Sócio-Diretor



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que foi aprovado pela Câmara Departamental, em 08/06/2022, o projeto de pesquisa intitulado “APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”, coordenado pela Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres, com parecer favorável emitido pela Profa. Elisabeth Neumann.

Belo Horizonte, 14 de junho de 2022.

Profa. GILIANE DE SOUZA TRINDADE
Chefe do Departamento de Microbiologia



Documento assinado eletronicamente por **Giliane de Souza Trindade, Professora do Magistério Superior**, em 22/07/2022, às 09:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1524380** e o código CRC **D99A0941**.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa para “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”. Pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e o descarte do material biológico humano vinculado somente a este projeto de pesquisa ou se o(a) Sr.(a) concordar em outros futuros. Todo material biológico coletado no Laboratório Santa Clara é identificado por um código e ele será utilizado durante todo o trabalho de pesquisa. As amostras biológicas coletadas seguirão protocolo de biossegurança. Temos um termo de autorização para tirar fotos da lesão e caso autorize, a imagem poderá ser utilizada como ilustração no artigo. Pedimos também a sua autorização para usar as informações registradas no prontuário médico, e no momento da coleta realizada pelo profissional do laboratório sobre uso de medicamentos tópico ou oral (esmaltes, cremes, pomadas, antifúngicos), presença de animal na residência, ferimento por arranhadura com animal ou ferimento com plantas, tempo e aparência das lesões, realização de exames anteriores, bem como informações descritas no pedido médico de exame ou informações de tratamento fornecidas diretamente pelo médico participante. O seu médico poderá ser procurado para colaborar na pesquisa, repassando informações sobre o caso clínico e tratamento, e ele também assinará um termo de consentimento.

Nesta pesquisa o objetivo é utilizar as amostras coletadas para realizar os exames laboratoriais e com os resultados fazer estudos dos dados epidemiológicos sem, contudo, divulgar ou permitir acesso a dados e imagens pessoais. Com essa pesquisa pretendemos aperfeiçoar a coleta das amostras de lesões dermatológicas, identificar as espécies envolvidas nessas infecções através da realização dos exames micológico direto e/ou cultura para fungos e também realizar testes com antifúngicos e dessa forma contribuir no diagnóstico laboratorial das infecções fúngicas dos pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Essa pesquisa gerará resultados que demonstrarão a prevalência das micoses cutâneas regionais correlacionadas com características relacionadas à ocupação, estilo de vida, uso de medicamentos e outros aspectos que, relacionados à prevalência dessas micoses, permitirão melhor atendimento aos pacientes e exames que permitam auxiliar no diagnóstico e tratamento médico das infecções fúngicas contribuindo assim para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: as amostras serão coletadas por raspagem com lâminas, quando a amostra for de unhas usaremos alicates estéreis e serão usados swabs nas coletas das secreções. Os materiais até o término deste projeto serão armazenados no Laboratório Santos Clara e posteriormente no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Caso seja necessário tirar fotos da lesão, um termo de autorização será apresentado ao paciente no ato da coleta e a imagem, caso seja autorizada, poderá ser usada na ilustração do artigo. No momento da coleta, os riscos de ferimento são mínimos, mas pode acontecer no momento da raspagem do material ou durante o uso do alicate e serão minimizados por compressão e se necessário será realizado um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.

Para participar deste estudo o Sr.(a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. O(A) Sr.(a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr.(a) é atendido(a) pelo Laboratório Santa Clara, que tratará sua identidade com padrões profissionais de sigilo e de acordo com a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD) 2021. Se se sentir desconfortável o Sr(a) poderá pausar o preenchimento, não responder ou desistir da participação na pesquisa sem qualquer prejuízo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir de seu material biológico, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O(A) Sr.(a) não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar desta pesquisa.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, e a outra será fornecida ao Sr.(a). Os dados, materiais e instrumentos

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções N° 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____ fui informado(a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

() Concordo que o meu material biológico e as informações fornecidas seja utilizado somente para esta pesquisa.

() Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisa, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do participante

Data

Assinatura do participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG.

Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901/Belo Horizonte – MG

Telefone: (031) 3409-2742. E-mail: naluperes@gmail.com

NALU TEIXEIRA DE AGUIAR PERES – Data:

Nome completo do Pesquisador: Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344 Bairro Major Prates. CEP: 39403213/ Montes Claros – MG

/Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com

GISLAINE TOLENTINO SARAIVA ALVARENGA – Data:

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (031) 3409 4592.

**TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA MENORES DE 12 a 17 anos)**

OBS: Este Termo de Assentimento para o menor de 12 a 17 anos não elimina a necessidade da elaboração de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que deve ser assinado pelo responsável ou representante legaldo menor.

Convidamos você _____, após autorização dos seus pais [ou responsáveis legais] para participar como voluntário(a) da pesquisa: **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**. Esta pesquisa é da responsabilidade da pesquisadora Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG. Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901 / Belo Horizonte – MG. Telefone: (031) 3409-2760. E-mail: naluperes@gmail.com. Também participa desta pesquisa a pesquisadora: Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga. Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344. Bairro: Major Prates. CEP: 39.403-213 / Montes Claros – MG. Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com.

Você será esclarecido(a) sobre qualquer dúvida com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via deste termo lhe será entregue para que seus pais ou responsável possam guardá-la e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu. Para participar deste estudo, um responsável por você deverá autorizar e assinar um Termo de Consentimento, podendo retirar esse consentimento ou interromper a sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem nenhum prejuízo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Nesta pesquisa pretendemos aperfeiçoar a coleta das amostras de lesões dermatológicas, identificar as espécies envolvidas nas infecções fúngicas através dos exames micológico direto e cultura para fungos e também realizar testes com antifúngicos e dessa forma promover um estudo da frequência das infecções fúngicas e seu perfil de susceptibilidade aos antifúngicos em pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: amostras biológicas serão coletadas por raspagem com lâminas, amostras de unhas serão coletados com o uso de alicates estéreis e utilizaremos swabs nas coletas das secreções. No momento da coleta o profissional do laboratório fará perguntas sobre o uso de medicamentos de uso tópico e oral (esmaltes, cremes, pomadas, antifúngicos), se convive com animais na residência, se apresenta ferimento por arranhadura por animal ou ferimento com plantas e usaremos essas e outras informações médicas, desde que devidamente autorizadas pelo responsável por você e pelo médico. Os riscos em participar desta pesquisa seriam a divulgação de informações, porém os responsáveis pelo projeto se comprometem em manter sigilo e a identificação dos participantes será somente por números, a fim de que estes dados sejam confidenciais. No momento da coleta, os riscos de ferimento no momento da raspagem do material ou no uso de alicates serão minimizados por compressão e se necessário será realizado um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.

Os participantes desta pesquisa terão como benefícios a melhoria da qualidade dos exames micológicos realizados no Laboratório Santa Clara e os benefícios indiretos da pesquisa seriam para a população em geral.

Todo o material até o término deste projeto será armazenado no Laboratório Santa Clara e posteriormente no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. A utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o paciente concordar em outros futuros.

Esclarecemos que você tem total liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas

Rubrica do pesquisador: _____
Rubrica do participante: _____

da Universidade Federal de Minas Gerais na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, pelo período mínimo de 5 anos após o término da pesquisa.

Não há necessidade de pagamento para você participar desta pesquisa, também não receberão nenhum pagamento para a sua participação, pois ela é voluntária.

Este documento passou pela aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFMG (CEP-UFMG) que está no endereço: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (031) 3409 4592.

Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

ASSENTIMENTO DO(A) MENOR DE IDADE EM PARTICIPAR COMO VOLUNTÁRIO(A)

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”, como voluntário (a). Fui informado (a) e esclarecido (a) pela pesquisadora sobre a pesquisa, o que vai ser feito, assim como os possíveis riscos e benefícios que podem acontecer com a minha participação. Foi-me garantido que posso desistir de participar a qualquer momento, sem que eu ou meus pais precise pagar nada.

Local e data _____

Assinatura do(a) menor: _____

**TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA MENORES DE 12 anos)**

OBS: Este Termo de Assentimento para o menor de 12 anos não elimina a necessidade da elaboração de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que deve ser assinado pelo responsável ou representante legal do menor.

Convidamos você _____, após autorização dos seus pais [ou responsáveis legais] para participar como voluntário(a) da pesquisa: **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**. Esta pesquisa é da responsabilidade da pesquisadora Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG. Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901 / Belo Horizonte – MG. Telefone: (031) 3409-2760. E-mail: naluperes@gmail.com. Também participa desta pesquisa a pesquisadora: Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga. Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344. Bairro: Major Prates. CEP: 39.403-213 / Montes Claros – MG. Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com.

Todos serão esclarecidos(a) sobre qualquer dúvida com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche, assine ao final deste documento ou após orientação do profissional e com ajuda do responsável apenas coloque a digital no local de assinatura. Uma via deste termo lhe será entregue para que seus pais ou responsável possam guardá-la e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu. Para participar deste estudo, um responsável por você deverá autorizar e assinar um Termo de Consentimento, podendo retirar esse consentimento ou interromper a sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem nenhum prejuízo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Nesta pesquisa pretendemos promover um estudo da frequência das infecções fúngicas e seu perfil de susceptibilidade aos antifúngicos em pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os participantes desta pesquisa terão como benefícios a melhoria da qualidade dos exames micológicos realizados no Laboratório Santa Clara e os benefícios indiretos da pesquisa seriam para a população em geral.

Todo o material até o término deste projeto será armazenado no Laboratório Santa Clara e posteriormente no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. A utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o paciente concordar em outros futuros.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, pelo período mínimo de 5 anos após o término da pesquisa.

Não há necessidade de pagamento para você participar desta pesquisa, também não receberão nenhum pagamento para a sua participação, pois ela é voluntária.

Este documento passou pela aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFMG (CEP-UFMG) que está no endereço: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (031) 3409 4592.

Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

Rubrica do pesquisador: _____
Rubrica do participante: _____

ASSENTIMENTO DO(A) MENOR DE IDADE EM PARTICIPAR COMO VOLUNTÁRIO(A)

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**, como voluntário (a). Fui informado (a) e esclarecido (a) pela pesquisadora sobre a pesquisa, o que vai ser feito, assim como os possíveis riscos e benefícios que podem acontecer com a minha participação. Foi-me garantido que posso desistir de participar a qualquer momento, sem que eu ou meus pais precise pagar nada.

Local e data _____

Assinatura do (a) menor: _____

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS)**

Solicitamos a sua autorização para convidar o(a) seu/sua filho(a) _____ ou menor que está sob sua responsabilidade, para participar, como voluntário(a), da pesquisa: **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**. Esta pesquisa é da responsabilidade da pesquisadora Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG. Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901 / Belo Horizonte – MG. Telefone: (031) 3409-2742. E-mail: naluperes@gmail.com. Também participa desta pesquisa a pesquisadora: Gislaïne Tolentino Saraiva e Alvarenga. Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344. Bairro: Major Prates. CEP: 39.403-213 / MontesClaros – MG. Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com.

O(a) Senhor(a) será esclarecido(a) sobre qualquer dúvida a respeito da participação dele(a) na pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e o(a) Senhor(a) concordar que o(a) menor faça parte do estudo, pediremos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias.

Uma via deste termo de consentimento lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. O(a) Senhor(a) estará livre para decidir que ele(a) participe ou não desta pesquisa. Caso não aceite que ele(a) participe, não haverá nenhum problema, pois desistir que seu filho(a) participe é um direito seu. Caso não concorde, não haverá mudanças na forma como será acolhido no Laboratório Santa Clara e também será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Nesta pesquisa pretendemos aperfeiçoar a coleta das amostras de lesões dermatológicas, identificar as espécies envolvidas nas infecções fúngicas através dos exames micológico direto e cultura para fungos e também realizar testes com antifúngicos e dessa forma promover um estudo da frequência das infecções fúngicas e seu perfil de susceptibilidade aos antifúngicos em pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: amostras biológicas serão coletadas por raspagem com lâminas, as amostras de unhas serão coletadas com o uso de alicates estéreis e swabs nas coletas das secreções. No momento da coleta você será submetido(a) pelo profissional do laboratório a um questionário onde registrará informações sobre uso de medicamentos tópico ou oral (esmaltes, cremes, pomadas, antifúngicos), convivência com animais na residência, se apresenta ferimento por arranhadura por animal ou ferimento com plantas, além da descrição do aspecto e tempo de lesão e transcrição das informações do pedido médico de exame (hipótese diagnóstica). Essas informações, desde que devidamente autorizadas por você e pelo seu médico poderão ser utilizadas nessa pesquisa. A pesquisa contribuirá para “gerar resultados que possam demonstrar a prevalência das micoses cutâneas, sua correlação com diferentes fatores como o estilo de vida, tipo de ocupação, idade, entre outros aspectos, e fornecerá dados laboratoriais que possibilite auxílio ao tratamento médico pela avaliação da susceptibilidade aos antifúngicos e permitirá análise da adesão e resposta clínica ao tratamento e dessa forma poderemos contribuir para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.” Os participantes desta pesquisa terão como benefícios a melhoria da qualidade dos exames micológicos realizados no Laboratório Santa Clara e os benefícios indiretos da pesquisa seriam para a população em geral. Todo o material até o término deste projeto será armazenado no Laboratório Santa Clara e posteriormente no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. A utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o paciente concordar

Rubrica do pesquisador: _____
Rubrica do participante: _____

em outros futuros. Os riscos em participar desta pesquisa seriam a divulgação de informações obtidas através dos dados de identificação na ficha do paciente, porém os responsáveis pelo projeto e os profissionais se comprometem em manter sigilo e a identificação dos participantes será somente por números, a fim de que estes dados sejam confidenciais. Caso seja necessário tirar fotos da lesão, um termo de autorização será apresentado ao responsável pelo(a) menor no ato da coleta e a imagem, caso seja autorizada, poderá ser usada na ilustração do artigo. Os riscos de ferimento na raspagem do material ou no uso de alicates são raros, mas caso aconteça serão minimizados por compressão e se necessário será realizado um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm total liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, pelo período mínimo de 5 anos após o término da pesquisa.

Ninguém pagará nada para você participar desta pesquisa, também não receberão nenhum pagamento para a sua participação, pois ela é voluntária.

Este documento passou pela aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFMG (**CEP-UFMG**) que está no endereço: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: 34094592.

Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

CONSENTIMENTO DO RESPONSÁVEL PARA A PARTICIPAÇÃO DO/A VOLUNTÁRIO

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, responsável por _____, autorizo a sua participação no estudo **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICOMICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**, como voluntário(a). Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da participação dele (a). Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de seu acompanhamento/ assistência/tratamento) para mim ou para o (a) menor em questão.

Local e data _____

Assinatura do(a) responsável: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Colaborador funcionário)

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) como colaborador(a) do Laboratório Santa Clara a participar da pesquisa para “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”. Todo material biológico coletado por você deverá ser identificado por um código gerado no atendimento e ele será utilizado durante todo o desenvolvimento da pesquisa. As amostras biológicas coletadas seguirão todos os protocolos de biossegurança. Temos um termo de autorização para tirar fotos da lesão que você deverá apresentar ao paciente e somente se autorizada a imagem poderá ser utilizada como ilustração no artigo. Nesta pesquisa o objetivo é utilizar as amostras coletadas para realizar os exames laboratoriais e com os resultados fazer estudos dos dados epidemiológicos sem, contudo, divulgar ou permitir acesso a dados e imagens pessoais. Com essa pesquisa pretendemos além de aperfeiçoar a coleta das amostras de lesões dermatológicas, identificar as espécies envolvidas nessas infecções através da realização dos exames micológico direto e cultura para fungos etambém realizar testes com antifúngicos e dessa forma contribuir no diagnóstico laboratorial das infecções fúngicas dos pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: os materiais serão coletados principalmente por raspagem com lâminas. Quando a amostra for de unhas usaremos alicates estéreis e usaremos swabs nas coletas das secreções. Todos os materiais serão processados e armazenados no Laboratório Santa Clara até o término desse projeto e posteriormente no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. No momento da coleta do material biológico e desde que esteja devidamente autorizado pelo paciente e pelo médico, você registrará em formulário próprio informações sobre o uso de medicamentos (esmaltes, cremes, pomadas, antifúngicos), tempo e aparência da lesão, convivência com animal na residência, presença de ferimento por arranhadura com animal ou ferimento com plantas, informações do pedido médico de exames (hipótese diagnóstica) e enviará ao setor técnico juntamente com a amostra coletada. No momento da coleta, os riscos de contaminação pra você são mínimos desde que cumpra todos os requisitos de biossegurança e os riscos de ferimento ao paciente também são mínimos, mas pode acontecer no momento da raspagem do material ou durante o uso do alicate e você fará compressão e se necessário realizará um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.

Para participar deste estudo o Sr.(a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. O(A) Sr.(a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos pode retirar esse consentimento, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer modificação no seu trabalho no Laboratório Santa Clara. Os resultados obtidos pela pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou informações que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que umaserá arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, e a outra será fornecida ao Sr.(a). Os dados dos questionários utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções N°

Rubrica do pesquisador: _____
Rubrica do participante: _____

466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado(a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

() Concordo e registrarei informações utilizadas somente para esta pesquisa.

() Concordo e registrarei informações que possa ser utilizada em outras pesquisa, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado as informações contidas no questionário.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do participante

Data

Assinatura do participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG.

Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901/Belo Horizonte – MG
Telefone: (031) 3409-2742. E-mail: naluperes@gmail.com

NALU TEIXEIRA DE AGUIAR PERES – Data:

Nome completo do Pesquisador: Gislaïne Tolentino Saraiva e Alvarenga

Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344 Bairro Major Prates. CEP: 39403213/ Montes Claros – MG /Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com

GISLAÏNE TOLENTINO SARAIVA ALVARENGA – Data:

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (031) 3409 4592.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Colaborador Médico)

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) como médico(a) a participar da pesquisa para “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”. Pedimos a sua autorização para a divulgação dos dados informados no questionário médico de cada paciente encaminhado pelo(a) Sr(a) ao Laboratório Santa Clara e vinculado somente a este projeto de pesquisa ou se o(a) Sr.(a) concordar em outros futuros. Todo material biológico coletado dos seus pacientes no Laboratório Santa Clara será identificado por um código e ele será utilizado durante todo o trabalho de pesquisa. As amostras biológicas coletadas seguirão todos os protocolos de biossegurança. Temos um termo de autorização para tirar fotos da lesão que será apresentado ao paciente no ato da coleta e a imagem, caso seja autorizada, poderá ser usada na ilustração do artigo. Nesta pesquisa o objetivo é utilizar as amostras coletadas para realizar os exames laboratoriais e com os resultados fazer estudos dos dados epidemiológicos sem, contudo, divulgar ou permitir acesso a dados e imagens pessoais. Nessa pesquisa pretendemos aperfeiçoar a coleta das amostras de lesões dermatológicas, identificar as espécies envolvidas nessas infecções através da realização dos exames micológico direto e cultura para fungos, realizar testes com antifúngicos e correlacionar com as informações fornecidas e devidamente autorizada por você e pelo paciente, registradas no questionário médico ou acessadas pelo profissional do laboratório no pedido médico de exames, e dessa forma contribuir no diagnóstico laboratorial das infecções fúngicas dos pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Essa pesquisa gerará resultados que demonstrarão além da prevalência regional dos agentes das micoses cutâneas, a sua correlação com a ocupação, estilo de vida, uso de medicamentos mais comuns no tratamento das dermatomicoses e essas informações possibilitarão um conhecimento mais abrangente sobre os principais antifúngicos utilizados e o perfil de resistência fúngica que são dados importantes no campo da dermatologia.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: as lesões descamativas serão coletadas por raspagem com lâminas, nas coletas das amostras de unhas usaremos alicates estéreis e usaremos swabs nas coletas das secreções. As informações enviadas no questionário médico ou acessada no pedido de exame serão utilizadas na pesquisa apenas quando devidamente autorizadas pelo médico e paciente. Há risco de quebra de sigilo das informações médicas, entretanto, os colaboradores são devidamente capacitados e orientados quanto à proteção das informações e dados de acordo com a lei geral de proteção de dados. No momento da coleta, os riscos de ferimento para o paciente são mínimos, mas pode acontecer durante o uso do alicate e serão minimizados por compressão e se necessário será realizado um curativo para manter o ferimento limpo e protegido.

Para participar deste estudo o Sr.(a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. O(A) Sr.(a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos pode retirar o consentimento de utilização do questionário e informações, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer modificação na forma em que você e seus pacientes são atendidos pelo Laboratório Santa Clara. Os resultados obtidos pela pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou informações que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, e a outra será fornecida ao Sr.(a). Os dados dos questionários utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

período de 5 (cinco) anos na sala H3-10 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa **“APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

() Concordo que o questionário e as informações sobre meus pacientes seja utilizado somente para esta pesquisa.

() Concordo que o questionário e as informações possa ser utilizado em outras pesquisa, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado as informações contidas no questionário.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do participante

Data

Assinatura do participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Nalu Teixeira de Aguiar Peres, professora do Departamento de Microbiologia, Laboratório de Micologia – ICB/UFMG.

Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Sala: H3-10. CEP: 31270-901/Belo Horizonte – MG
Telefone: (031) 3409-2742. E-mail: naluperes@gmail.com

NALU TEIXEIRA DE AGUIAR PERES – Data:

Nome completo do Pesquisador: Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga

Endereço: Rua Professor Raimundo Neto, 344 Bairro Major Prates. CEP: 39403213/ Montes Claros – MG /Telefones: (38) 99194-3424. E-mail: gislainetsa@gmail.com

GISLAINE TOLENTINO SARAIVA ALVARENGA – Data:

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (031) 3409 4592.

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA USO DE IMAGEM

Por este Termo, _____, CPF nº _____, residente (endereço) _____, telefone: () _____, e-mail _____, autoriza a utilização da(s) imagem(ns) das lesões tiradas durante a coleta de amostras biológicas no Laboratório Santa Clara para uso na análise do procedimento laboratorial e reproduzida(s) em publicação vinculada a pesquisa intitulada: “Aperfeiçoamento dos procedimentos de diagnóstico micológico e o perfil epidemiológico dos agentes de micoses cutâneas na cidade de Montes Claros-MG de autoria das pesquisadoras Nalu Teixeira de Aguiar Peres e Gislaïne Tolentino Saraiva Alvarenga.

Montes Claros, _____ de _____ de _____

(Assinatura do cedente dos direitos da(s) imagem (ns))

Nº Paciente	Idade	Gênero	Sítios de Coleta	CF	EMD	Uso de Medicamento	Comorbidade	Ocupação	Contato com animal	Tempo de lesão	Tipo de Tratamento/Resposta clínica ao tratamento, Teve melhora?
1	29	F	1º Pododáctilo pé direito (1) 1º Pododáctilo pé esquerdo(2)	Candida parapsilosis (1) Candida spp (2)	Presença de Leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida. (1 e 2)	NI	NI	lutadora jiu jitsu	NI	>3 m	Itraconazol/Esmalte Amorolfina 8%/Sim
2	27	F	Unhas halux direito (1) unhas halux esquerdo(2)	Neg (1) Neg(2)	Neg (1 e 2)	Ciclopirox	NI	Auxiliar de produção	NI	15 a	Ciclopirox/Sim e por isso não retornou ao médico
3	22	M	Descamação bordas pés (1) Lesões em Virilha (2)	Trichophyton rubrum(1) Candida pelliculosa(2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas(1) Pres leveduras com características do gênero Candida(2) / Corinebacterium spp	NI	NI	estudante	NI	4 m	NI
4	52	M	Raspado subungueal halux direito(1) Raspado subungueal halux esquerdo(2)	Trichophyton mentagrophytes(1) Candida parapsilosis(2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas(1) Presença de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.(2)	NI	NI	Propagandista	NI	muitos anos	Itraconazol/Esmalte loceryl /Sim
5	72	F	Raspado da unha do pé esquerdo	Negativa	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas	Ciclopirox	NI	dona de casa	Sim, cão	> 1 a	Terbinafina/Ciclopirox/Melhorou
6	38	M	Unhas dos pés	Trichophyton rubrum	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas	NI	NI	Consultor de vendas	NI	> 8 a	Terbinafina/Icaden e loceryl esmalte/sim
7	27	F	Região cervical	NS	Presença de blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia	Cetoconazol	NI	NI	sim, cão, gato	muitos anos	Cetoconazol oral e shampoo/Não melhorou totalmente
8	34	M	Raspado subungueal do halux direito	Trichophyton rubrum/Sacharomyces cerevisiae	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas	NI	NI	Enfermeiro	NI	> 2 a	NI
9	42	M	Raspado de pele região do tronco	NS	Negativo	NI	NI	NI	NI	5 d	NI
10	44	M	Região do braço	NS	Negativo	NI	NI	NI	NI	7 d	NI
11	37	M	Raspado cervical (1) Raspado das nádegas (2)	NS	Presença de blastoconídeos sugestivos do gênero Malassezia (1) Negativo(2)	Sim, tópico	NI	Pavimentador	NI	20 a	Prescreveu Cetoconazol shampoo e pomada + hipossulfito de sódio spray/Não fez tratamento
12	21	F	Onicólise em 1º pododáctilo direito(1) Onicólise em 1º pododáctilo esquerdo(2)	Neg Neg	Neg Neg	NI	NI	NI	NI	> 1 a	NI
13	76	F	Raspado unha pododáctilo esquerdo(1) Raspado unha pododáctilo direito (2)	Fusarium sp (1 e2)	Número regular de hifas hialinas septadas (1 e 2)	NI	NI	Aposentada	NI	>1 m	Não retornou
14	78	F	Raspado subungueal halux esquerdo	Neg	Neg	NI	NI	NI	NI	> 1 a	NI

15	54	M	Raspado ungueal pododáctilo Direito (1) Raspado ungueal pododáctilo Esquerdo(2)	Neg (1) Neg(2)	Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas(1) Neg(2)	Cimecort	NI	NI	NI	> 10 a	Itraconazol, esmalte/melhorou
16	74	M	Raspado subungueal halux esquerdo	Trichophyton rubrum	Numerosas hifas hialinas septados e ramificadas	comprimidos	Líquen plano	aposentado	sim, Pássaro	> 4 a	Micolamina Ciclopirox Olamina creme/Loceryl esmalte/teve melhora
17	51	F	Raspado subungueal halux direito	Neg	Neg	Fungirox/It raconazol	NI	Não informou	NI	> 30 d	Itraconazol/fungirox/sim
18	40	F	Raspado subungueal halux direito	Trichophyton mentagrophytes	Numerosas hifas hialinas septados e ramificadas	NI	NI	Técnico química	NI	30 d	Terbinafina/Loceryl esmalte/Melhorou
19	55	M	Raspado subungueal Halux direito(1) Raspado subungueal Halux esquerdo(2)	NS	Numerosas hifass hialinas septadas e ramificadas (1 e 2)	NI	NI	vendedor	NI	>20 a	Retornou/Prescreveu Itraconazol, não fez tratamento
20	53	F	Raspado unhas mão direita	Candida parapsilosis	Presença de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.	Sim, pomada e creme	NI	com tecidos e tinta	sim, cão, gato	> 2 a	Itraconazol/pomada e creme/sim
21	57	M	Raspado ungueal halux direito (1) Raspado do pé direito(2)	Trichophyton rubrum(1 e 2)	Numerosas hifass hialinas septadas e ramificadas (1 e 2)	Sim, creme	NI	financeiro	NI	> 5 a	Terbinafina/ loceryl esmalte/sim
22	68	F	Raspado subungueal halux direito(1) Raspado subungueal halux esquerdo(2)	NS	Neg (1 e 2)	NI	HAS	Aposentada/Limpe za hospitalar	NI	>9 a	NI
23	21	F	Unhas dos pés	Neg	Neg	NI	NI	vendedora	NI	> 1 ano	Tratou anemia e as unhas melhoraram
24	70	F	Raspado ungueal pododáctilo direito(1) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(2)	Candida parapsilosis (1 e 2)	Presença de Leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.(1 e 2)	fez tratamento antes	Diabética	dona de casa aposentada	NI	> 10 a	Retornou/médico prescreveu amorolfina a 5 % , não fez tratamento
25	53	F	Raspado unha quirodáctilo direito	Fusarium sp	Número regular de hifas hialinas septadas	Sim, esmalte	HAS	Professora	NI	> 5 a	Itraconazol/loceryl esmalte uso contínuo mas parou/Pouca melhora
26	55	F	Raspado ungueal pododactilo direito(1) Raspado ungueal pododactilo esquerdo (2) Raspado lesão plantar(3)	Trichophyton mentagrophytes (1) Trichophyton mentagrophytes (2) NS (3)	Raras hifas hialinas septadas (1) Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas(2) e Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas(3)	NI	NI	Analista na Sec de educação	NI	>5 a	Usou Amorolfina e Lysoform nos calçados e tratamento homeopático/Prescrito fentizol tb mas não fez uso/Melhorou
27	60	M	Onicólise em 1º pododáctilo (1) Descamação em bordas do pé direito(2)	Trichophyton rubrum,/ Candida guiliermondii(1) Trichophyton rubrum(2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (1 e 2)	NI	NI	Professor	NI	>1 a	Não retornou
28	55	F	Raspado da unha do 1º quirodáctilo da mão direita	Candida parapsilosis	Número regular de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.	NI	NI	NI	NI	> 4 a	NI
29	27	F	Raspado de pele intramamária	Candida parapsilosis	Raras leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.	NI	NI	Recepcionista	NI	> 1 m	pomada cetoconazol (trok)/sim

30	28	M	Unha do pé esquerdo	Trichophyton rubrum	NS	fez tratamento antes	NI	eng agronomo	NI	>12 a	Retornou recentemente, terbinafina e loceryl/ainda não melhorou
31	38	M	Raspado ungueal pododáctilo direito (1) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(2)	Negativa(1 e 2)	Negativo (1 e 2)	NI	NI	Professor	NI	> 1 a	NI
32	48	F	Raspado ungueal pododáctilo direito (1) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(2)	Negativa (1 e 2)	Negativo(1 e 2)	Esmalte	NI	Professora	Ferimento em queda moto	>1 a	NI
33	58	F	Raspado da unha do 5º quirodáctilo mão direita (1) Onicólise em 2º pododáctilo(2)	Candida orthopsilosis (1) Candida spp (2)	Presença de Leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida(1 e 2)	NI	NI	Bancária	NI	> 1m	Loceryl/Melhorou
34	62	F	Raspado unha quirodáctilo esquerdo(1) Raspado unha quirodáctilo direito(2) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(3) Raspado ungueal pododáctilo direito(4)	Aspergillus spp (1,2,3 e 4)	Raras hifas hialinas (1,2,3 e 4)	NI	Diabética/Esclerose sistêmica	Aposentada	NI	>20 a	Não retornou
35	73	F	Raspado da unha do 1º pododáctilo do pé esquerdo	Fusarium sp	Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas	NI	Diabética	Aposentada	NI	>2 a	Prescreveu Fungiroxl/Usando ciclopirox tópico, pingando/teve melhora
36	53	F	Unha do pé esquerdo	Negativa	Negativo	NI	Tireopatia	Professora aposentada	N/queda de objeto	> 3m	NC
37	35	M	Raspado de lesão cervical e tronco(1) Raspado de pele dos cotovelos(2)	Malassezia spp(1) Negativa(2)	Numerosos blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia.(1) Negativo(2)	NI	NI	militar	NI	>6a	Cetoconazol Shampoo, sabonete e med tópico/ainda possui manchas
38	50	F	Raspado subungueal do halux direito(1) Raspado de Lesão plantar(2)	Neg(1 e 2)	Raras leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.(1) Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas(2)	pomada	suspeita CA	NI	Cão	>2 m	Fluconazol oral 150 mg/pequena melhora/relata vivência momento de muito stress
39	26	M	Raspado subungueal do halux direito	Neg	Neg	NI	NI	NI	NI	>4 m	NI
40	35	F	Raspado subungueal halux esquerdo	Candida parapsilosis	Raras leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.	NI	NI	Bancária	v	>muitos anos	Não retornou
41	27	F	Raspado de pele	NS	Negativo	pomada/rifocina	NI	NI	cachorro	15d	NI
42	40	M	Raspado do pé direito (1) Raspado do pé esquerdo (2)	Trichophyton rubrum (1 e 2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (1 e 2)	NI	Diabético	Não informou	NI	>1 a	Itraconazol e está melhor
43	23	F	Unha do pé direito	Trichophyton rubrum	NS	usou itraconazol há 1 a	machucou	Dentista	NI	>1 a	Itraconazol por 3 meses, melhorou

44	48	M	Raspado unha pododáctilo(1) Descamação em bordas dos pés(2)	Trichophyton mentagrophytes (1 e 2)	Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas (1) Raras hifas hialinas septadas e ramificadas (2)	NI	Síndrome de Down/Psoriase?	NI	NI	> 5 a	Micolamina Ciclopirox Olamina creme/lysoform nos calçados/teve melhora
45	42	F	Rasp ungueal pododáctilo direito(1) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(2)	Aspergillus sp (1 e 2)	Neg (1 e 2)	Cetoconazo 1	NI	Professora	NI	> 1 ano	Olapamina/Não tratou pq TGO e TGP alterados por causa do tratamento H pilori
46	46	F	Raspado do dorso	NS	Numerosos blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia.	NI	NI	Policial	NI	>2 a	Cetoconazol Shampoo, med oral e tópico/ainda possui manchas
47	61	F	Raspado das unhas halux direito	Neg	Neg	NI	NI	aposentada	NI	>5 a	NI
48	14	F	Raspado da unha do 1º quirodático da mão esquerda	Candida guilliermondii	Presença de Leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.	Sim/Locery 1	NI	estudante	NI	> 3 a	Loceryl, pouca melhora
49	20	F	Raspado de pele região tronco(1) Raspado pele região face(2)	NS NS	Numerosos blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia(1) Negativo(2)	NI	NI	estudante	NI	> 1 a	Prescreveu shampoo cetoconazol, spray hipossulfito, não fez tratamento
50	52	F	Raspado subungueal do halux direito	Neg	Neg	sim, comprimidos terbinafina	alguém pisou	Salgadeira	sim, cão	>muitos anos	comprimidos terbinafina/locerylmelhorou
51	40	M	Raspado de pele região axilas (1) Raspado em tronco(2)	NS NS	Neg(1) Presença de regular número de blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia.(2)	NI	NI	professor	NI	> 6 m	Shampoo Cetoconazol/Med tópico Hipossulfito de sódio/Pouca melhora, ainda tem manchas
52	2	M	Raspado de couro cabeludo	Microsporum canis	Raras hifas hialinas septadas	NI	NI	NI	Sim, cão	.>6m	Sim, terbinafina/melhorou e já está nascendo cabelo no local
53	31	F	Raspado de unha halux direito (1) Raspado de borda da unha halux esquerdo(2)	Neg Neg	Neg (1) Neg (2)	Ciclopirox e outros	NI	NI	NI	>muitos anos	Ciclopirox, pouca melhora
54	28	M	Rasp pele região coxas	NS	Neg Corinebacterium spp	NI	NI	Engenheiro de Minas	NI	> 4 m	Ciclopirox olamina 1%, Eritromicina 2%, Peróxido de benzoíla 2,5%,creme/lysoform nas roupas
55	24	M	Raspado ungueal (1) Raspado de pele região plantar(2)	Neg (1) NS (2)	Neg (1) Neg (2)	NI	NI	NI	NI	>30 d	NC
56	28	M	Raspado de Pele região lombar	NS	Presença de blastoconídeos sugestivos do gênero Malassezia.	NI	NI	Professor	NI	>1 a	Shampoo Cetoconazol/Med tópico Hipossulfito de sódio/Pouca melhora, ainda tem manchas
57	61	F	Raspado ungueal pododáctilo direito (1) Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(2) Raspado dos pés(3)	Trichophyton rubrum(1,2 e 3)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (1,2 e 3)	NI	NI	Professora Aposentada	NI	muitos anos	Terbinafina/esmalte/melhorou

58	38	F	Raspado da unha do pododáctilo (1) Descamação em pododáctilos(2)	Candida parapsilosis(1 e2)	Presença de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida(1 e 2)	NI	NI	NI	NI	>3 anos	Fluconazol oral /Ciclopirox olamina/ teve melhora
59	58	F	Raspado subungueal do halux esquerdo	Neg	Neg	NI	diabética	artesã	NI	> 1a	Não retornou/chickungunya
60	35	F	Raspado de pele de lesão em tórax	NS	Numero regular de hifas hialinas septadas	NI	NI	confeiteira	cachorro	> 15 d	Melhorou/fentizol creme
61	18	F	Raspado de lesão plantar	NS	Neg	NI	NI	estudante	NI	>1 m	NC
62	62	F	Raspado do pé direito (1) Raspado da unha do 1° pododáctilodo pé direito(2) Eritema em Virilhas(3)	Negativa (1) Trichophyton rubrum/ Pseudomonas aeruginosa(2)/ Trichohyton rubrum (3)	Neg(1) Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (2)) Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas/ Corinebacterium spp (3)	NI	CA mama/quimioterapi	aposentada	NI	> 2a	Não levou devido a outros problemas
63	45	F	Eritema em virilhas	Candida albicans	Numerosas levduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.			NI		>3m	Cetoconazol/teve melhoras
64	48	F	Unha do pé direito	Fusarium sp	NS	fez tratamento antes	NI	NC	NI	>há longo tempo	Não pegou o resultado pq fez cirurgia
65	35	F	Raspado ungueal do pé esquerdo(1) Raspado ungueal pé direito(2)	Trichophyton rubrum(1 e 2)	Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas (1 e2)	ciclopirox	NI	NI	NI	>1 a	NI
66	13	F	Raspado de Lesão em braços	Neg	Neg	NI	NI	estudante	NI	> 1 m	NI
67	27	F	Lesão em coxas	Microsporium canis	Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas	NI	NI	NI	Não, mas tem contato	>1m	Itraconazol, melhorou
68	21	M	Raspado de pele em região do abdomen	NS	Numerosas hifas curtas e blastoconídeos em cachos sugestivos do gênero Malassezia.	NI	NI	estudante	Sim, cão	>1 a	Ciclopiroxolamina/Spray hipossulfito/iniciou o tratamento há uma semana e ainda não tem resultado
69	66	M	Raspado subungueal dos halux(1) Raspado subungueal dos Polegares(2)	Neg(1) Candida parapsilosis(2)	Neg(1) Pres Raras leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.(2)	NI	NI	aposentado/trabalha com produtos químicos	NI	> 10 a	Loceryl, não melhorou porque machucou a unha na porta do carro
70	28	F	Raspado região palmar(1) Raspado região plantar(2)	Neg (1) Neg(2)	Neg (1 e 2)	NI	Psoríase	NI	Sim,cão	>2 a	NI
71	80	F	Raspado da unha do 1° pododáctilo do pé direito (1) Raspado da unha do 1° pododáctilo do pé esquerdo(2)	Fusarium sp/Candida sp(1e2)	Numerosas hifas hialinas septadas e leveduras apresentando brotamentos sugestivos do gênero Candida. (1 e 2)					>muitos anos	Médica pediu para coletar novamente/ainda não retornou
72	61	F	Região plantar	Trichophyton mentagrophytes	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas	NI	NI	aposentada	NI	>5 a	Isoconazol/Icadem/Melhorou

73	49	F	Raspado das unhas pé Direito(1) Raspado das unhas pé esquerdo(2)	Neg (1 e 2)	Raras hifas hialinas septadas(1) Número regular de hifas hialinas septadas (2)	Fungirox/Loceryl/Kanasten	médica	NI	>2 a	Loceryl, fungirox, pouca melhora	
74	37	F	Raspado subungueal do 1° pododáctilo	Neg	Neg	Vários/não lembra	NI	Não informou	NI	>6 a	NI
75	63	F	Raspado de unha	Candida parapsilosis	NS	NI	doença reumatológica	professora aposentada	NI	>1a	Não pegou o resultado
76	67	M	Raspado ungueal pododáctilo esquerdo(1) Raspado subungueal pododáctilo direito(2)	Trichophyton mentagrophytes (1) Trichophyton mentagrophytes (2)	Número regular de hifas hialinas septadas (1 e 2)	NI	Hiperferritinemia metabólica	Veterinário/productos químicos	NI	>1a	NI
77	34	F	Raspado subungueal do haxl direito(1) Raspado de lesão Plantar(2)	Trichophyton rubrum (1) Trichophyton rubrum (2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (1) Número regular de hifas hialinas septadas e ramificadas (2)	Loceryl/sem melhoras	NI	empresária/área atividade física	NI	>2m unha/pés>m uitos anos	Não pegou o resultado
78	60	F	Onicólise em 1° pododáctilo direito	Neg	Neg	Creme com antifúngico	diabética/trauma na unha	aposentada	NI	>2 a	NI
79	41	F	Raspado da unha do 2° quirodáctilo da mão direita(1) /Raspado da unha do 3° quirodáctilo da mão direita(2)/Raspado subungueal do halux direito(3)/Raspado da unha do 4° pododáctilo do pé esquerdo(4)/Raspado da unha do 5° pododáctilo do pé esquerdo(5)	Candida albicans (1) Neg(2) Trichophyton rubrum (3,4 e 5)	Presença de leveduras apresentando brotamentos com características do gênero Candida.(1) Neg(2)/ Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas .(3,4 e 5)	NI	NI	NI	NI	NI	NI
80	53	F	Onicólise em quirodátiles	Aspergillus sp	Negativo	loceryl	Psoríase?	trabalha com luvas,limpeza	NI	>6 m	Clobetazol, uso há uma semana, ainda não melhorou
81	52	M	Raspado do pé direito (1) Raspado subungueal dos haluxs direito e esquerdo (2)	Trichophyton rubrum(1 e 2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas.(1 e 2)	NI	NI	NI	Sim, vários tipos	>2 a	Prescrito Itraconazol/Não começou tratamento
82	44	M	Descamação em regiões plantares(1) Raspado subungueal dos halux(2)	Trichophyton mentagrophytes (1 e 2)	Numerosas hifas hialinas septadas e ramificadas (1 e 2)	NI	NI	vendedor	Sim, cão	>3 anos	Icadem(isoconazol)/loceryl esmalte/ melhorou
83	55	M	Raspado de lesão(1) Raspado dos pés(2) Raspado subungueal halux direito(3) Raspado subungueal halux esquerdo(4)	Neg(1) Trichophyton spp (2) Trichophyton spp/ Scytalidium spp(3) Trichophyton spp	Neg(1) Raras hifas hialinas septadas (2,3 e 4)	NI	Psoríase	NI	NI	>2 m	Não pegou o resultado

Legenda – CF: Cultura de Fungos, EMD: Exame Micológico Direto, NS: Não Solicitado, NI: Não Informado.

Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD)

1. Identificação dos membros do grupo de pesquisa

Nome completo (sem abreviação)	RG	Assinatura
Nalu Teixeira de Aguiar Peres	026.388.782-0	
Gislaine Tolentino Saraiva Alvarenga	M3357510	

2. Identificação da pesquisa

- a) Título do Projeto: **”AVALIAÇÃO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS – MG”**
- b) Departamento/Faculdade/Curso: Programa de Pós-Graduação Profissional em Microbiologia. Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais.
- c) Pesquisador Responsável: Nalu Teixeira de Aguiar Peres.

3. Descrição dos Dados

São dados a serem coletados nos arquivos do Laboratório Santa Clara (LSC) somente após aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (CEP-UFMG) e dos Comitês de Ética do PMGuBH: dados epidemiológicos de micoses superficiais e cutâneas registradas no período de março de 2022 a fevereiro de 2023.

Os dados obtidos na pesquisa somente serão utilizados para o projeto vinculado. Para dúvidas de aspecto ético, pode ser contactado o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CEP/UFMG): Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31270-901 Unidade Administrativa II - 2º Andar - Sala: 2005 Telefone: (031) 3409-4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br.

4. Declaração dos pesquisadores

Os pesquisadores envolvidos no projeto se comprometem a manter a confidencialidade sobre os dados coletados nos arquivos do LSC, bem como a privacidade de seus conteúdos, como preconizam a Resolução 466/12, e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde.

Declaramos entender que a integridade das informações e a garantia da confidencialidade dos dados e a privacidade dos indivíduos que terão suas informações acessadas estão sob nossa responsabilidade. Também declaramos que não repassaremos os dados coletados ou o banco de dados em sua íntegra, ou parte dele, a pessoas não envolvidas na equipe da pesquisa.

Os dados obtidos na pesquisa somente serão utilizados para este projeto. Todo e qualquer outro uso que venha a ser planejado, será objeto de novo projeto de pesquisa, que será submetido à apreciação do CEP UFMG.

Devido à impossibilidade de obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de todos os sujeitos, assinaremos esse Termo de Consentimento de Uso de Banco de Dados, para a salvaguarda dos direitos dos participantes.

Belo Horizonte, 02 de fevereiro de 2022.

Nome completo (sem abreviação)	Assinatura
Nalu Teixeira de Aguiar Peres	
Gislaine Tolentino Saraiva Alvarenga	

5. Autorização da Instituição

Declaramos para os devidos fins, que cederemos aos pesquisadores apresentados neste termo, o acesso aos dados solicitados para serem utilizados nesta pesquisa.

Esta autorização está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a mesma a utilizar os dados dos participantes da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

Antes de iniciar a coleta de dados a pesquisadora deverá apresentar o Parecer Consubstanciado devidamente aprovado, emitido por Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, credenciado ao Sistema CEP/CONEP.

Belo Horizonte, 02 de fevereiro de 2022.

Termo de Constituição de Biorrepositório

O presente acordo estabelece as normas para operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano coletado e armazenado em Biorrepositório, vinculado ao Projeto de Pesquisa “**APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS AGENTES DE MICOSES CUTÂNEAS NA CIDADE DE MONTES CLAROS - MG**”, a ser gerenciado pela pesquisadora **Gislaine Tolentino Saraiva e Alvarenga**, com participação do **Laboratório Santa Clara**, instituição privada, situado na Praça Dr Carlos, nº 11, Bairro: Centro, na cidade de Montes Claros-MG, CNPJ nº 18.878.108/0001-47 e do **LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**, na Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31270-901 Sala: H3-10 Telefone: (031) 3409-2742 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br , fundação pública, CNPJ nº 17.217.985/0013-48 e da professora **NALU TEIXEIRA DE AGUIAR PERES** do **LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS** situada na Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31270-901, Sala: H3-10 Telefone: (031) 3409-2742 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br , fundação pública, CNPJ nº 17.217.985/0013-48 conforme definido na legislação competente, atendendo, em especial, ao disposto nas Resoluções nº 441/11 e nº 466/12, ambas do CNS.

1. O Biorrepositório, constituído por amostras de cultivo de fungos isolados de pacientes atendidos no Laboratório Santa Clara em Montes Claros-Mg e atenderá às normas do Regimento Institucional de Biorrepositório da instituição depositária e será sediado e armazenado no **LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**, inscrito no CNPJ sob o nº 17.217.985/0013-48 e situado , na Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31270-901 Sala: H3-10 Telefone: (031) 3409-2742;
2. O material biológico constituinte do Biorrepositório será mantido em temperatura ambiente até sua utilização;
3. O prazo de armazenamento do Biorrepositório será o mesmo definido no cronograma do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CEP-UFMG);

4. As instituições acordantes, devidamente representadas, poderão ter acesso aos dados e materiais obtidos em decorrência da execução do projeto, durante sua vigência, mediante solicitação aos membros da equipe do projeto;
5. A solicitação de acesso a dados e materiais do Biorrepositório somente poderá ser feita por meio dos membros da equipe do projeto de pesquisa, devidamente cadastrados na Plataforma Brasil, dentro dos parâmetros estabelecidos pelo Projeto de Pesquisa e mediante aprovação da análise ética;
6. O Biorrepositório estará sob a responsabilidade do pesquisador, competindo aos acordantes o cumprimento das disposições aqui constantes e observância das normas contidas no regulamento de Biorrepositório;
7. A requisição de amostras durante a vigência da pesquisa deverá ser feita por escrito e não poderá causar prejuízo ao regular desenvolvimento do Projeto de Pesquisa;
8. Havendo a retirada ou desistência por parte do participante da pesquisa, referente à amostra coletada e armazenada, deverá o pesquisador e a instituição que mantém a guarda disponibilizarem a amostra, nos termos da regulamentação vigente. Nesse caso, será facultado ao participante da pesquisa requerer a amostra ou solicitar que ela seja destruída pelo pesquisador;
9. Em caso de dissolução da parceria entre as instituições durante a vigência do projeto, a partilha e destinação dos dados e materiais que compõem o Biorrepositório serão objeto de novo acordo que deverá ser submetido à análise de ética dos Comitês de Ética Institucionais;
10. Em caso de encerramento do projeto de pesquisa, havendo interesse de uso futuro das amostras do Biorrepositório e quando autorizado pelo participante da pesquisa em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o pesquisador responsável pelo projeto deverá manifestar seu interesse por escrito e assinado pelos pesquisadores e instituições parceiras. A partilha e destinação dos dados e materiais que compõem o Biorrepositório serão objeto de novo acordo entre as instituições, que deverá ser submetido à análise ética dos Comitês de Ética em Pesquisa envolvidos;
11. Para uso futuro das amostras em nova pesquisa, em atendimento ao disposto na Resolução nº 441/2011 do CNS, deverá haver submissão de novo Projeto de Pesquisa ao Sistema CEP/CONEP;
12. Todos os materiais armazenados no Biorrepositório serão destruídos ao final do projeto de pesquisa, caso não haja manifestação nos termos da Cláusula 10;
13. Os casos não contemplados pelo presente Termo de Constituição de Biorrepositório serão submetidos à análise conjunta dos acordantes e resolvidos de comum acordo pelas partes envolvidas.

Assinaturas (com a inclusão de carimbos):

Pesquisador Principal do Projeto

Representante Legal da Instituição

Chefia do Serviço de Pesquisa

Responsável Legal pela Instituição Acordante

(exemplo: Diretor da Unidade ou da Fundação)

	<h1>LABORATÓRIO SANTA CLARA</h1>
PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	
Título: POP.MIC.14 – Exame Micológico Direto	
Análise Crítica: Dr. Jayme Gusmão Pinheiro Data: 13/11/2022 Assinatura: 	Aprovado: Dr. Jayme Gusmão Pinheiro Data: 23/11/2022 Assinatura: 
Elaboração: Gislaíne Tolentino Saraiva	

1. SINONÍMIA

Pesquisa de fungos de qualquer tipo de amostra biológica (escarro, líquidos corporais, etc); exame direto de raspado de pele, pelos e unhas.

2. PRINCÍPIO

Identificar estruturas fúngicas no material biológico após clarificação.

3. AMOSTRA

Tipo de Amostra

- Raspados de pele de regiões lesionadas, suspeitas de tinas.
- Raspados de unhas infectadas, depósitos sub-ungueais.
- Pêlos e escamas das regiões afetadas.
- Líquor.
- Escarro, líquido pleural, lavado bronco-alveolar (BAL) e outros líquidos corporais.
- Secreções genitais (vide POP.MIC.10-Exame Direto a Fresco).

Coleta

Vide MAN.COL-Coleta de Amostras Biológicas.

Volume Mínimo

O volume mínimo de raspados não necessita ser quantificado em termos de massa ou volume, mas devem ser em quantidade necessária e suficiente para que sejam tratados pelos métodos usuais de pesquisa e sejam representativos.

Líquor: 1 ml

Escarro, líquido pleural, lavado bronco-alveolar e outros: 3 ml

Volume Recomendado

Para raspados de pele, pelos e unhas: NA

Líquor: acima de 1 ml

Escarro, líquido pleural, lavado bronco-alveolar e outros líquidos corporais: acima de 3 ml.

Conservação

Os raspados de pele, pelos e unhas coletados em placas de Petri ou outros frascos podem ser armazenados à temperatura ambiente.

Após a adição de clarificantes, o material deverá ser examinado em até 40 minutos.

Obs.: Algumas amostras podem ser colhidas em solução fisiológica estéril.

Líquor: Em TA até o processamento.

Escarro, líquido pleural, lavado bronco-alveolar, etc: armazenar à Temperatura Ambiente até o processamento.

Preservação/Armazenamento

Raspados: N.A.

Outras ABs: conforme POA.SGQ.21-Transporte, Manuseio, Preservação, Embalagem e Armazenamento de ABs e PCs.

Causas de Rejeição

Amostras não identificadas ou identificadas inadequadamente.

3.8. Cuidados no Descarte da Amostra

Conforme PGRSS do LSC.

4. MATERIAIS UTILIZADOS

- Alça bacteriológica
- Cabine de Fluxo laminar
- Lâminas e lamínulas

5. EQUIPAMENTOS

NA.

6. METODOLOGIA

Pesquisa de fungos por microscopia direta.

7. REAGENTES UTILIZADOS**Reagentes**

KOH a 20% - usado para qualquer tipo de amostra.

KOH a 40% - usado para material de unha.

Obs.: KOH \longrightarrow Hidróxido de Potássio (potassa)

Azul de Algodão

Tinta Nankim (tinta da china).

Preparo dos Reagentes

Vide POA.STE.01-Preparo e Manuseio de Soluções.

Estabilidade e Conservação

Vide POA.STE.01-Preparo e Manuseio de Soluções.

Tinta Nankim/ Azul de Algodão: conforme orientação do fabricante.

8. PROCEDIMENTO

Inspeção Inicial e Registro

Vide POA.SGQ.11-Inspeção e Situação de Inspeção.

Identificação das Amostras

Vide POA.SGQ.09-Identificação e Rastreabilidade.

Execução (Passo a Passo)**Preparo da amostra****LÍQUOR**

- Centrifugar 1 a 5 ml da AB a 1500 - 2000 rpm por 5 ± 2 minutos.
- Guardar o sobrenadante.

ESCARRO, BAL, LÍQUIDO PLEURAL E OUTROS LIQUÍDOS CORPORAIS

- Colocar cerca de 1 a 2 ml da AB de origem respiratória baixa representada por material purulento, sanguinolento, ou caseoso em tubo de vidro estéril.
- Adicionar algumas gotas de KOH a 20%.
- Fechar o tubo e agitar fortemente para homogeneizar.
- Incubar o material em estufa bacteriológica a $35 - 37^{\circ}\text{C}$ por até 2 horas.
- Centrifugar a 1500 - 2000 rpm por 15 ± 2 minutos.
- Desprezar sobrenadante.

Processo de análise

Ao receber AB e FB, dar inspeção inicial e gerar grade do respectivo exame no SI.

Conferir as amostras enviadas e a identificação do nome completo do paciente e protocolo de identificação.

Reajuntar todo o material (escamas da pele, pelos e raspados ungueais) que estejam esparsos, em um só lugar junto às paredes das placas de Petri

Inclinar as placas e sobre o material reajuntado adicionar o KOH, que é usado para qualquer tipo de AB.

Obs.: A quantidade de clarificante adicionada depende do tipo de material e de seu volume. Quando for material de unha adicionar KOH a 40%.

Aguardar de 30 a 40 minutos dependendo da AB para examinar.

Examinar ao microscópio óptico com objetivas de 10 e 40x o material clarificado, entre lâmina e lamínula, buscando as estruturas fúngicas tais como as hifas septadas ou cenocíticas, leveduras, conídeos, etc.

Obs.: As ABs coletadas em solução fisiológica são observadas ao MO, com as objetivas de 10 e 40x.

Transcrever o resultado para FB.

LÍQUOR:

Homogeneizar o sedimento

Colocar 1 gota do sedimento em uma lâmina.

Colocar 1 gota da tinta nankim na lâmina junto ao sedimento.

Examinar em MO, com objetiva de 40 e pesquisar estruturas

Laboratório São José	
Título: Exame Micológico Direto	Código: POP.MIC.14

fúngicas.
ESCARRO, LÍQUIDO PLEURAL, BAL e outros líquidos corporais.
Homogeneizar o sedimento.
Colocar 1 gota do sedimento entre lâmina e lamínula e examinar em microscópio óptico com a objetiva de 40x pesquisando as estruturas fúngicas..
Transcrever o resultado na FB.

Cálculos

NA.

9. RESULTADOS

Valores de Referência

Exame micológico direto ou pesquisa de fungos negativa.

Valores Críticos

NA.

Registro de Resultados

Os resultados são escritos nas próprias fichas de bancada, registrados em CR, digitados e assinados eletronicamente no próprio setor e arquivados no setor até o envio para o arquivo morto.

Interpretação

- É realizada com base na análise microscópica das estruturas fúngicas observadas em cada tipo de AB.
- Comparação das estruturas com Atlas de micologia.

Exames Correlacionados

Cultura para fungos da mesma amostra biológica solicitada.

10. CALIBRAÇÃO DA METODOLOGIA

NA.

11. CONTROLE DA QUALIDADE

Vide POA.SGQ.16-Controle da Qualidade.

12. CRITÉRIOS PARA LIBERAÇÃO DE LAUDOS

A adequação entre o resultado obtido e a indicação diagnóstica, quando desta se dispõe. Comparação com exames correlacionados, se estes houverem sido solicitados.

13. LINEARIDADE

NA.

14. LIMITES DE DETECÇÃO

NA.

15. APLICAÇÃO CLÍNICA

EXAMES DOS PELOS

Quando há invasão dos pelos por hifas septadas ou artroconídios: dermatofitose ectotrix (externa) ou endotrix (interna).

Presença de nódulos claros branco-amarelados formados por artroconídios:

Pedra branca.

Presença de nódulos escuros, acastanhados: Pedra negra.

Presença de nódulos gelatinosos, homogêneos, formando bainha nos pêlos (genitais ou axilares): tricomiose axilar ou palmelina.

ESCAMAS EPIDÉRMICAS

- Obtidas de lesões circinadas, pruriginosas, de bordas elevadas, escamosas, áreas de alopecia e de unhas.

Presença de hifas hialinas, septadas, ramificadas e artroconídios:

Dermatofitose.

- Obtidos de lesões hipocrômicas bem superficiais:

Presença de hifas curtas, hialinas, septadas e cachos de blastoconídios:

Pitiríase versicolor (*Malassezia furfur*).

- Lesões úmidas intertriginosas nas grandes dobras ou em mucosas esbranquiçadas, pruriginosas:

Presença de leveduras isoladas, com brotamentos e formando pseudo-hifas:

Candidíase.

No paciente com queixa de febre, cefaléia, vômito e imunologicamente deprimido cuja suspeita é de meningite fúngica o achado de estruturas arredondadas gemulantes e com cápsula, evidenciada pela tinta nankim é diagnóstico de criptococose.

Se forem visualizadas outras estruturas fúngicas, anotar e correlacionar com outras micoses.

Micoses pulmonares determinadas por fungos de patogenicidade discutível, que devem ser interpretadas com dados clínicos e outros correlatos.

- Candidíase: presença de pseudo-hifas e blastoconídios

- Micoses pulmonares determinadas por fungos realmente patogênicos: estrutura arredondada, parede birrefringente, gemulação múltipla (roda-de-leme) diagnóstica Paracoccidiodomicose.

- Estrutura arredondada, gemulante, encapsulada: Criptococose.

16. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

A principal variável desta análise é a capacidade do observador e seu conhecimento prático junto a uma boa coleta da AB.

17. ABREVIATURAS

CR – Caderno de Registros

MIC – Setor de Microbiologia

N.A. – Não aplicável

PI – Plano de Inspeção

POA – Procedimento Operacional de Apoio

POP – Procedimento Operacional Padrão

PQ – Procedimento da Qualidade

TA – Temperatura ambiente

FB – Ficha de bancada

AB – Amostra biológica

MO – Microscópio óptico

BAL – Lavado Bronco-Alveolar

Laboratório São José	
Título: Exame Micológico Direto	Código: POP.MIC.14

18. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Practical Laboratory Mycolgy-Koneman-Roberts 1985

19. HISTÓRICO DAS ALTERAÇÕES

HISTÓRICO DAS ALTERAÇÕES	
REVISÃO	ITENS REVISADOS
01	Todas as modificações e inclusões feitas no texto estão em vermelho

	<h2>LABORATÓRIO SANTA CLARA</h2>
PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	
Título: POP.MIC.15-Cultura para Fungos	
Análise Crítica: Dr. Jayme G. Pinheiro Data: 22/10/2022 Assinatura: 	Aprovado: Dr. Jayme Gusmão Pinheiro Data: 23/10/2022 Assinatura: 
Elaboração: Gislaíne Tolentino Saraiva	

1. SINONÍMIA

Cultura micológica, macro e micro cultura para fungos.

2. PRINCÍPIO

Consiste no cultivo e identificação de fungos das diversas amostras clínicas em meios de cultura específicos

3. AMOSTRA

Tipo de Amostra

Raspado cutâneo, unha, pelos, secreções de mucosa, secreções respiratórias, sangue, líquor, biópsias, urina, swabs obtidos de diferentes sítios corpóreos, etc.

Coleta

Vide MAN.COL-Coleta de Amostras Biológicas/Coleta de amostras para exames micológicos..

Volume Mínimo

N.A.

3.4 Volume Recomendado

N.A.

Conservação

As amostras de biópsia de tecido, líquor, escarro, urina e sangue devem ser, preferencialmente, processadas de imediato ou quando não é possível, conservadas em geladeira de 2 a 8°C.

As amostras de pelos, raspados cutâneos descamativos, raspados das unhas podem ser conservadas à temperatura ambiente.

Preservação/Armazenamento

Após processamento as ABs restantes de líquor, secreções respiratórias, biópsias, entre outras, são conservadas sob refrigeração, conforme POA.SGQ.21-

Transporte, Manuseio, Preservação, Embalagem e Armazenamento de ABs e PCs.

Causas de Rejeição

Amostras biológicas não identificadas ou identificadas inadequadamente.

3.8. Cuidados no Descarte da Amostra

Conforme PGRSS do LSC.

3. MATERIAIS UTILIZADOS

Alça bacteriológica

4. EQUIPAMENTOS

Cabine de fluxo laminar.

5. METODOLOGIA

Semeadura em meios de cultivo específicos, seguida de isolamento e identificação dos fungos.

6. REAGENTES UTILIZADOS

Reagentes

Agar-Sabouraud Dextrose, Agar-Seletivo para fungos patogênicos (Mycosel).

Preparo dos Reagentes

Conforme o MAN.MIC-Preparo de Meios de Cultura

Estabilidade e Conservação

Conforme o
MAN.MIC-Preparo de Meios de Cultura

7. PROCEDIMENTO

Inspeção Inicial e Registro

Vide POA.SGQ.11-Inspeção e Situação de Inspeção.

Identificação das Amostras

Vide POA.SGQ.09-Identificação e Rastreabilidade.

Execução (Passo a Passo)

Preparo da amostra

- Líquor e outros líquidos corporais, centrifugar 1 a 5 ml do material em tubo esterilizado por 5 ± 2 minutos a 1500 a 2000 rpm. O Cryptococcus não é afetado a esta velocidade.
- O sangue deve ser lisado, antes da semeadura, em água esterilizada (40 ml de água para 10 ml de sangue heparinizado) e centrifugado por 10 ± 2 minutos a 1500 a 2000 rpm.
- Prosseguir em 8.3.2.4

Processo de análise

Ao receber AB e FB, dar inspeção inicial e gerar grade do respectivo exame no SI.

Trabalhar sempre próximo a um bico de Bunsen ou em cabine de fluxo laminar.

Selecionar os meios rotineiros: Agar Sabouraud, Agar Mycosel com cloranfenicol e cicloheximida e identificá-los com o nome do paciente.

As ABs tais como lesões mucosas, escarro, pus e exsudato, urina, fezes, swabs genitais, raspados de pele, unha e cabelo: semear nos meios de rotina e incubar a temperatura ambiente.

Semear o líquido, outros líquidos corporais e sangue preparados em Sabouraud, Mycosel (usado como meio diferencial pois o *Cryptococcus* não se desenvolve neste) e incubar a temperatura ambiente.

Após o período de incubação que varia de acordo com a espécie de fungo em desenvolvimento, identificá-los pela observação macroscópica e microscópica das colônias e quando necessário fazer o microcultivo (vide manual de identificação de fungos).

As culturas negativas são liberadas em tempos variáveis (de 5 dias, no mínimo a 30 dias, no máximo) dependentes do tipo de material e/ou da espécie de fungo que se objetiva isolar.

Obs.: Na liberação do resultado, tanto quanto possível, fazer constar gênero e espécie do isolado.

Cálculos

N.A.

8. RESULTADOS**Valores de Referência**

Ausência de isolamento de fungos considerados patogênicos.

Valores Críticos

N.A.

Registro de Resultados

Os resultados nas próprias fichas de bancada, registrados em CR, digitados e assinados eletronicamente no próprio setor e arquivados no setor antes de ser enviado ao arquivo morto.

Interpretação

É realizada com base na análise visual dos meios de cultura, análise microscópica e macroscópica das colônias, realização do microcultivo (conforme POA. STE. 03- Identificação de Fungos), se necessário, e comparação com diversos atlas de micologia, cepas ATCC ou isolados da rotina.

Exames Correlacionados

Exame micológico direto ou análise da amostra biológica pela coloração do Gram.

9. CALIBRAÇÃO DA METODOLOGIA

N.A.

10. CONTROLE DA QUALIDADE

Vide POA.SGQ.16-Controle da Qualidade.

11. CRITÉRIOS PARA LIBERAÇÃO DE LAUDOS

- Conferencia do resultado da cultura com exames correlacionados (Exame direto a fresco, exame micológico direto após clarificação, pesquisa de parasitas).
- Coerência entre o achado micológico e a indicação diagnostica, quando dela se dispõe.

12. LINEARIDADE

N.A.

13. LIMITES DE DETECÇÃO

N.A.

14. APLICAÇÃO CLÍNICA

As infecções causadas por fungos (micoses) ocupam lugar de destaque na Patologia. São responsáveis por vários distúrbios, alguns dos quais graves e mesmo mortais.

As micoses podem ser classificadas de acordo com sua localização em: Micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas e profundas.

As micoses superficiais/cutâneas estão entre as infecções fúngicas mais comuns e os sítios da pele, pelos e unhas são causadas principalmente pelos grupos de fungos denominados dermatófitos, podendo ser também causadas por leveduras do gênero *Candida* ou fungos filamentosos não dermatófitos.

As micoses subcutâneas são infecções fúngicas que acometem primariamente a pele e tecidos subcutâneos, e geralmente desenvolvem-se após penetração do organismo na pele em local de pequenos traumas. A esporotricose é um exemplo desse tipo de micose causada pelo fungo *Sporothrix schenckii*,

A cromomicose constitui uma micose subcutânea e é causada por fungos produtores de pigmentos escuros (demáceos), afeta principalmente trabalhadores rurais. Os fungos causadores da cromomicose habitam o solo, plantas, flores e madeiras. *Fonsecaea pedrosoi* é o patógeno mais comum no Brasil.

Micetomas são infecções crônicas da pele e tecidos subjacentes causadas por fungos (eumicetomas) ou bactérias (actinomicetomas). O aumento de volume, fístulas comunicantes e secretantes, e a extrusão de grãos caracteriza os micetomas, que geralmente acometem os membros inferiores. No Brasil, os principais agentes etiológicos dos eumicetomas são *Acremonium* sp e *Madurella grisea*. Actinomicetomas são causados por bactérias endógenas anaeróbias (*Actinomyces israelii* e *Actinomyces bovis*) ou aeróbias (*Actinomyces* sp, *Nocardia brasiliensis* e *Streptomyces* sp).

Micoses Sistêmicas são infecções causadas por fungos patogênicos primários e que têm como porta de entrada o trato respiratório, donde podem disseminar para todo o organismo. As micoses sistêmicas endêmicas no Brasil são: Paracoccidiodomicose, Histoplasmosse, Coccidiodomicose e Criptococose.

A Paracoccidioidomicose é uma micose profunda e sistêmica, de evolução aguda, subaguda ou crônica. Causada pelo Paracoccidioides brasiliensis. Tem dimorfismo térmico, podendo ser filamentosos (25° C) ou leveduriforme (37° C). Sinônimo – Blastomicose Sul Americana, Doença de Lutz, Splendore e Almeida.

A Criptococose, é uma micose sistêmica causada por um complexo de fungos patogênicos identificados no gênero Cryptococcus. Adquirida através da inalação de propágulos infectantes, inclui duas entidades clínicas distintas: (1) criptococose oportunística, cosmopolita, associada a condições de imunodepressão celular, causada por Cryptococcus neoformans var. neoformans e (2) criptococose primária, endêmica em áreas tropicais e subtropicais, ocorre em hospedeiros aparentemente normais, causada por Cryptococcus neoformans, C. gattii. Ambas causam meningoencefalite de base, de evolução grave, fatal, acompanhada ou não de lesão pulmonar evidente, fungemia e focos secundários para pele, ossos, rins, supra-renal, entre outros.

A Histoplasmose é uma infecção fúngica sistêmica podendo apresentar-se desde uma infecção assintomática até a forma de doença disseminada com êxito letal. Constitui-se na mais comum infecção respiratória causada por fungo – Histoplasma capsulatum. É adquirida por inalação de esporos dispersos no ambiente rico em guano (fezes de morcegos e aves) e está amplamente distribuída no mundo.

15. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

A qualidade da amostra influencia diretamente o resultado, assim:

- Um resultado positivo indica a presença do agente patológico, devendo ser confirmado com a avaliação e sintomas clínicos.
- A coleta inadequada pode levar a falsos resultados.

A principal variável desta análise é a capacidade do observador e seu conhecimento prático junto a uma boa coleta da amostra biológica relacionada ao isolado fúngico.

16. ABREVIATURAS

AB – Amostra Biológica

CR – Caderno de Registros

FB – Ficha de Bancada

MIC – Setor de Microbiologia

ml – Mililitros

N.A. – Não aplicável

POA – Procedimento Operacional de Apoio

POP – Procedimento Operacional Padrão

17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Practical Laboratory Micology – Konemanm – robertes 1985.
- <https://www.saude.go.gov.br/biblioteca/337-suvisa/7428-micoses-sist>

18. HISTÓRICO DAS ALTERAÇÕES

HISTÓRICO DAS ALTERAÇÕES	
REVISÃO	ITENS REVISADOS
01	Todas as modificações e inclusões feitas no texto estão em vermelho

	<h1>LABORATÓRIO SANTA CLARA</h1>
<h2>Manual de Identificação de Fungos</h2>	
<p>Título: MAN. MIC. 01- Manual de Identificação de Fungos</p>	
<p>Análise Crítica: Dr. Jayme Gusmão Pinheiro Data: 25/11/2023 Assinatura: </p>	<p>Aprovado: Dr. Jayme Gusmão Pinheiro Data: 25/11/2023 Assinatura: </p>
<p>Elaboração: Gislane Tolentino Saraiva e Alvarenga</p>	

1. OBJETIVO

Realizar a identificação macro e microscópica dos fungos isolados das culturas. Deve-se valorizar o isolamento de fungos procedentes de qualquer amostra biológica, especialmente aquelas encaminhadas ao setor com a suspeita já especificada pelo profissional médico como as amostras para diagnóstico de infecções genitais, micoses cutâneas, fluidos corporais estéreis, fragmentos de tecidos coletados pelo laboratório ou pelo médico como biópsias ou peças operatórias, urina obtida por sondagem ou cistoscopia, independentemente da contagem de colônias, raspado de córnea ou humor vítreo encaminhado pelo médico e outras mais.

O profissional de laboratório deve tentar identificar todas as culturas positivas relevantes e emitir o resultado mais acurado possível. Muitas vezes, o exame microscópico direto da cultura é suficiente para direcionar as medidas de controle da infecção, outras vezes somente a identificação do fungo pode orientar adequadamente a conduta clínica. A identificação dos fungos, de modo ideal, deve contemplar o gênero e a espécie, porém, muitas vezes, em especial para os fungos filamentosos, isso não é possível pelo grau de dificuldade e complexidade desses micro-organismos além das limitações das técnicas de identificação. Nesses casos, deve-se tentar chegar à identificação do gênero.

2. APLICAÇÃO

Setor de Microbiologia/Micologia.

3. DEFINIÇÃO

N.A.: Não Aplicável

SBPC: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

TA: Temperatura Ambiente

ASD: Agar Sabouraud Dextrose

4. DESCRIÇÃO

Exame Macroscópico de Cultura de Fungos

Fundamenta-se na observação macroscópica das colônias dos fungos.

Material

Tubos de Agar Sabouraud Dextrose (ASD) e/ou Agar Mycosel ou outros meios de cultura como o Agar Sangue, Agar Chocolate usados para o desenvolvimento de bactérias, mas com crescimento visível de fungos nas culturas. Os tubos e/ou placas de cultura são observados rotineiramente uma ou duas vezes na semana para verificação do crescimento fúngico. As leveduras crescem rapidamente permitindo a visualização das colônias a partir de 48 – 72 horas. Os dermatófitos crescem lentamente e a maioria dos isolados tem seu crescimento em torno de 7 a 20 dias. A identificação de todos os fungos dermatófitos, fungos filamentosos não dermatófitos e leveduras são inicialmente baseados na análise macromorfológica, agrupados conforme a Figura 1 para em seguida prosseguir como determinado pela chave de identificação, anexo 1 e respectivas características de cada grupo Figuras 17, 18 ou 19..

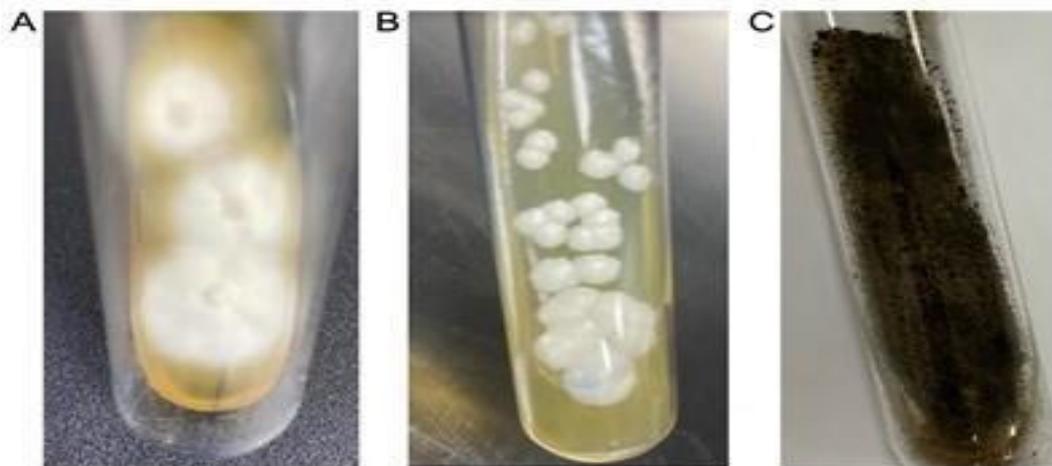


Figura 1. A. Colônias do fungo dermatófito *Trichophyton* spp. (B) da levedura *Candida albicans* e (C) do fungo filamentosos não dermatófito *Aspergillus* spp em ASD a 28 °C (A e C) e 35 °C (B).

Técnica

Fazer a observação das colônias baseando-se nas seguintes características a seguir:

- Meios de cultivo e as condições ambientais nas quais o fungo se desenvolveu: meio seletivo, não seletivo e a temperatura de crescimento.
- Presença de micélio aéreo, característicos de fungos filamentosos.
- Velocidade de crescimento: lenta (>15 dias), médio (8 a 14 dias) ou rápido (< 7 dias).
- Aspecto: cotonoso, pulverulento, úmida, seca, cremosa, cerebriforme, etc.
- Cor: verso, anverso, pigmento da colônia difusível no meio de cultura.
- Contorno: circular, oval, irregular, elíptico, etc.
- Consistência: brandos, pastoso, coriáceos, lenhosos.
- Bordas: onduladas, inteiras, denteadas, laceradas, ciliadas, lobuladas, etc.
- Topografia da superfície: dobras, sulcos, elevações, pregas, etc.
- Topografia do reverso.

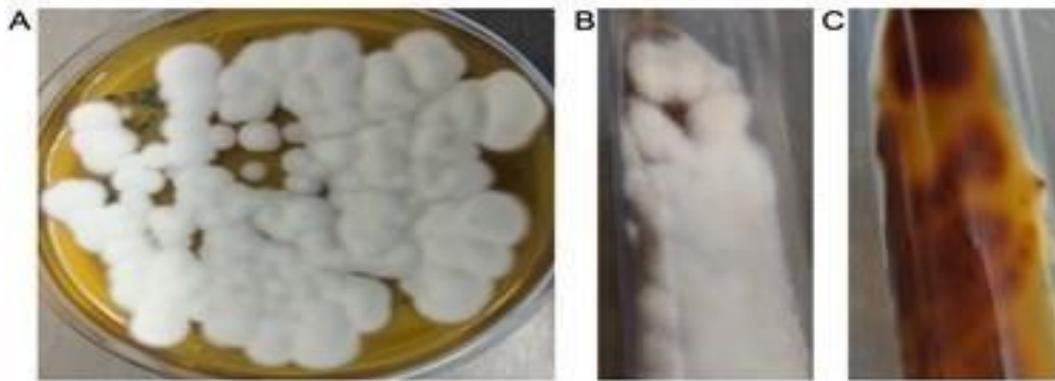


Figura 2. Cultura do dermatófito *Trichophyton rubrum* em ASD em (A) placas de Petri e (B, C) tubos por 15 dias a 28 °C. B. Anverso do tubo e C. Reverso da colônia demonstrando a formação de pigmento vermelho, característico da espécie.

Interpretação

Na observação macroscópica da cultura de fungos devem-se diferenciar colônias de fungos leveduriformes de colônias de fungos filamentosos, e entre esses separar presuntivamente os fungos saprófitas (oportunistas) dos fungos patogênicos. Os fungos saprófitas habitualmente têm um crescimento rápido entre 1 a 5 dias, apresentam micélio aéreo abundante, podem produzir colônias coloridas devido à produção de esporos de diversas cores e são inibidos em meio de cultivo seletivo (mycosel). Já os fungos patogênicos, habitualmente crescem mais lentamente, entre 7 a 20 dias, produzem colônias brancas, beges, marrons, amarelas, alaranjadas ou negras e crescem em meio seletivo (mycosel). Os fungos crescem em meios de cultivos artificiais com uma variedade de formas, cores e aspectos. Nem sempre é possível reconhecer um fungo apenas por sua morfologia macroscópica, sendo necessário um exame microscópico para fazer sua identificação em nível de gênero ou espécie. Nesse manual abordaremos grupos de fungos de interesse médico.

Exame Microscópico de Cultura de Fungos

Fundamenta-se na observação microscópica das colônias dos fungos entre lâmina e lamínula. A análise microscópica é realizada fazendo a raspagem das colônias para observação das estruturas de identificação fúngica ao microscópio óptico em objetivas de 10 e 40 x. Fazemos o reconhecimento dos tipos de estruturas fúngicas (hifas hialinas, demáceas, septada ou cenocítica, tamanho e forma dos conídios quando presentes, verificamos a presença de leveduras, pseudo-hifas, blastoconídios, etc) e isso direciona para a identificação de fungos filamentosos ou leveduriformes, anexo 1. Quando não se consegue ver a estrutura de reprodução assexuada dos fungos filamentosos para identificação e somente é visualizado o micélio aéreo, deve-se realizar o microcultivo pela técnica de Ridell que favorece o crescimento das estruturas conidiais. Também pode ser realizado para estudo das leveduras e confirmação da espécie *Candida albicans* juntamente com o tubo germinativo.

Material

- Lâminas
- Lamínulas

- Salina estéril
- Colônia do fungo

Técnica

- Trabalhar preferencialmente em cabine de fluxo laminar.
- Com auxílio de alça bacteriológica, colocar sobre a lâmina de vidro, pequena porção de salina.
- Raspar a superfície da colônia (micélio aéreo) do fungo e depositar sobre a lâmina com salina esterilizada, promovendo uma suspensão. Pode ser usado corantes como o azul de lactofenol algodão para facilitar a visualização das estruturas de reprodução assexuada.
- Colocar a lamínula sobre a suspensão e observá-la ao microscópio em aumento de 100 a 400 X.

Interpretação

Fungos filamentosos

O exame microscópico também deve se basear na observação de formas estruturais básicas, assim como as hifas vegetativas e tipos de conídios.

As hifas vegetativas podem formar uma variedade de estruturas não específicas que tem pouco significado diagnóstico, pois podem aparecer numa enorme variedade de fungos, mas deve-se ressaltar a sua importância no grupo dos dermatófitos em particular porque eles têm predileção em produzir estas formas.

Os conídios vegetativos são estruturas de reprodução assexuada (esporulação) e são mais específicos para cada espécie. De acordo com o seu arranjo nas hifas podem se diferenciar em arthroconídios (propágulo formado pela fragmentação das hifas), blastoconídios e clamidoconídeos.

- A observação de hifas hialinas septadas e ramificadas oriundas dos fungos causadores de micoses cutâneas deve-se atentar para espécies de dermatófitos cujos gêneros mais comuns são *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Nannizzia*, que serão diferenciados a partir dos micro ou macroconídios que apresentarem conforme Figuras 3, 4, 5 e 18.

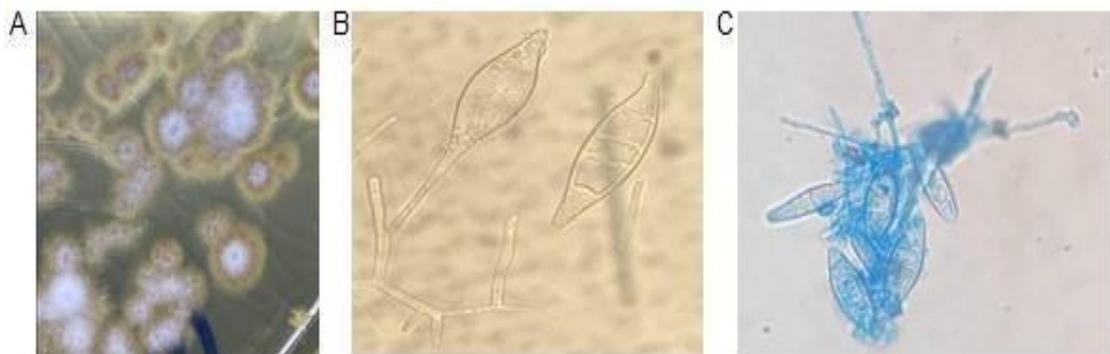


Figura 3 - Análise macro e microscópica da colônia do dermatófito *Microsporum canis* cultivado em ASD por 15 dias a 28°C. (A) Aspecto macroscópico com colônia branca, verso de cor amarelo-amarronzado, (B) Aspecto microscópico demonstrando macroconídios septados (3 a 5 septos) visualizados sem e (C) com o corante azul de lactofenol algodão.

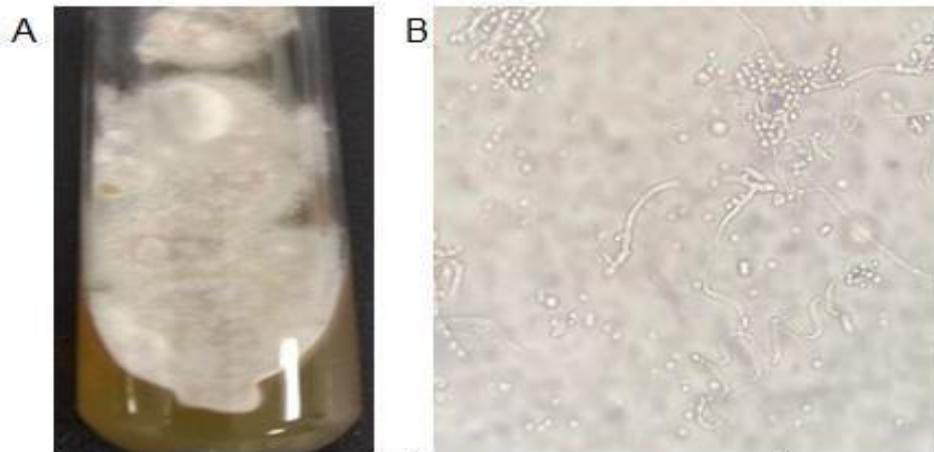


Figura 4. Morfologia macro e microscópica do *Trichophyton mentagrophytes*: colônias achatadas, coloração branca, superfície pulverulenta, botão central elevado. Microconídeos esféricos, hialinos, dispostos lateralmente nas hifas, presença de hifas em espiral (gavinha).

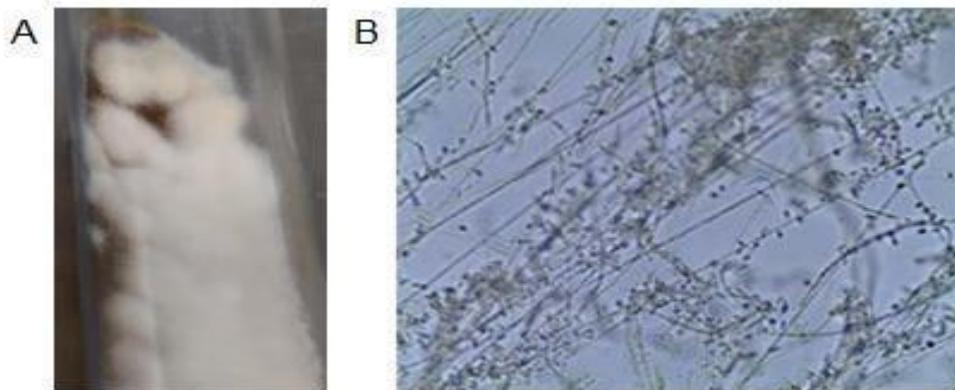


Figura 5: A: Colônia do *Trichophyton rubrum* em ASD. B: Micromorfologia do *Trichophyton rubrum* apresentando hifas hialinas septadas e microconídios piriformes.

- Presença de hifas hialinas septadas, ramificadas com conidióforos que determinam uma vesícula dilatada – espécies de *Aspergillus*; com conidióforos que se ramificam em um penicílio – espécies de *Penicilium*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*, com conídios em cachos – espécies de *Acremonium*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Fusarium*. Figuras 6, 7 e 19.

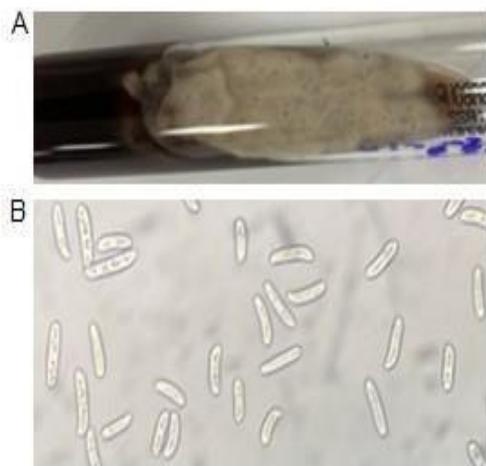


Figura 6. Análise Macro (A) e micromorfológica (B) da cultura em ASD do fungo filamentoso não dermatófito *Fusarium* spp apresentando macroconídios curvos e com múltiplos septos.

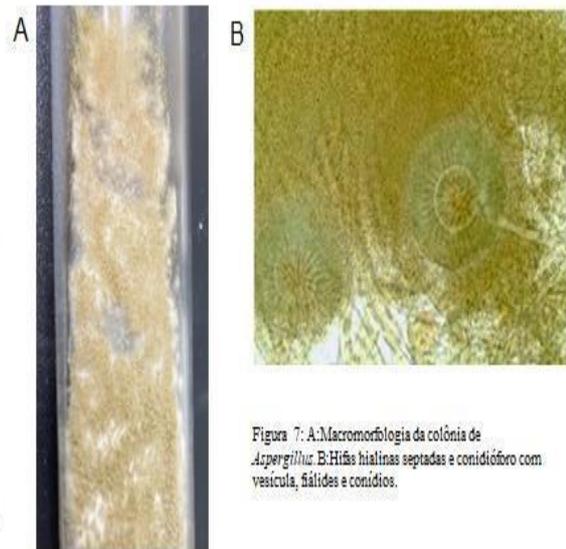


Figura 7: A:Macromorfolgia da colônia de *Aspergillus*. B:Hifas hialinas septadas e conidióforo com vesícula, filídes e conídios.

- A observação de hifas cenocíticas não ramificadas deve-se atentar para o antigo Filo Zygomycota, atualmente Mucormycota, cujos principais gêneros são *Rhizopus* e *Mucor*. Figura 8.

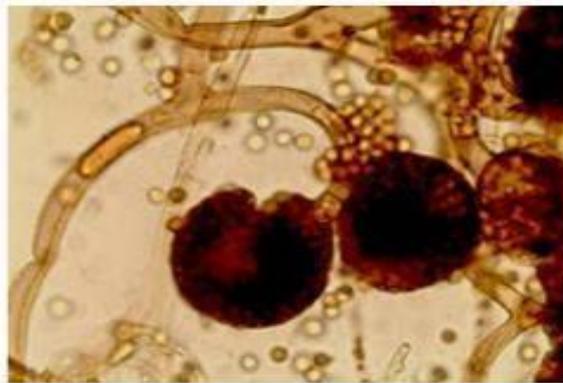


Figura 8: Micromorfolgia da colônia de *Mucor*.

- A observação de hifas septadas demáceas com pigmentação escura devido a presença de melanina caracterizam fungos que incluem as infecções como a Feohifomicoses, Cromoblastomicose e micetoma. A Figura 9 caracteriza uma colônia de fungo demáceo e o aspecto microscópico das hifas.

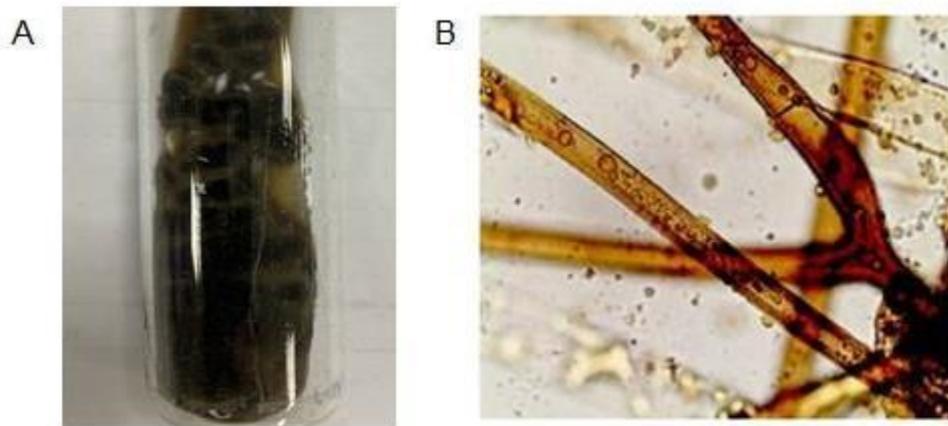


Figura 9. A. Colônia de fungo demáceo. B. Análise microscópica da colônia com presença de hifas septadas demáceas.

- A observação de hifas hialinas septadas e microconídios em forma de margarida oriunda de fungo isolado de micose subcutânea caracteriza a esporotricose.

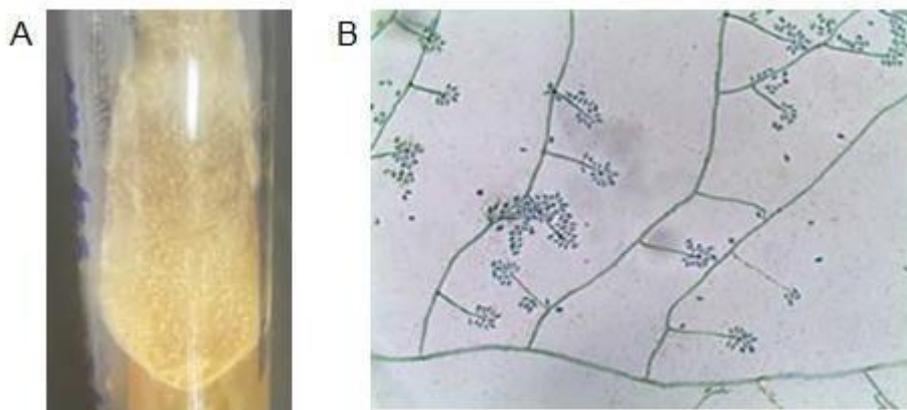


Figura 10. A: Colônia do *Sporothrix* spp em ASD. B: Micromorfologia do *Sporothrix* spp apresentando conidióforos com microconídios em forma de margarida.

Fungos leveduriformes

- A presença de blastoconídios, conídios produzidos por (gemulação), com células filhas originadas da célula mãe por constricção, é típico de fungos leveduriformes dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, figuras 11.

A Figura 12 apresenta a colônia do *Cryptococcus* spp em ASD e apresenta o resultado da pesquisa direta do fungo em amostra de líquido com a tinta nanquim.

A análise da origem do isolado e observação macro e microscópica da colônia é importante para a identificação dos fungos leveduriformes conforme anexo 1 e Figura 17 do anexo.

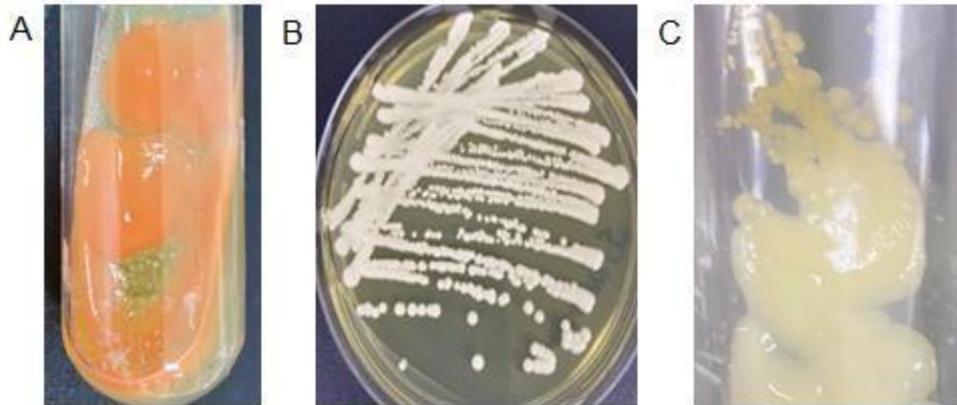


Figura 11. Macromorfologia das colônias de fungos leveduriformes. A: *Rhodotorula* spp, B: *Candida* spp e C: *Cryptococcus* spp.

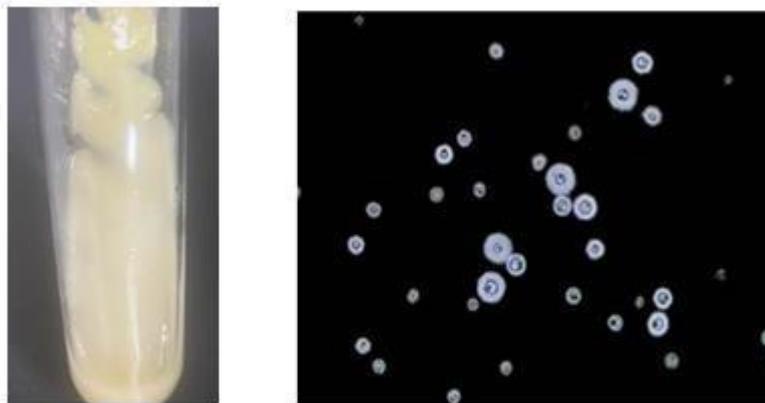


Figura 12. A: Macromorfologia da colônia de *Cryptococcus* spp em ASD. B: exame direto de liquor com tinta nanquim apresentando leveduras com brotamentos e cápsula.

Fungos dimórficos:

São fungos filamentosos que sob algumas condições, como temperatura a 37 °C, mudança de pH ou concentração de CO₂, adquirem forma leveduriforme. O dimorfismo é comprovado pela diferenciação do aspecto micro e macroscópico de cada fase. Exemplos de fungos dimórficos mais comuns: Complexo *Paracoccidioides*, *Histoplasma capsulatum*, fungos causadores de micoses sistêmicas. A micromorfologia das espécies são apresentadas nas Figuras 13 e 14..

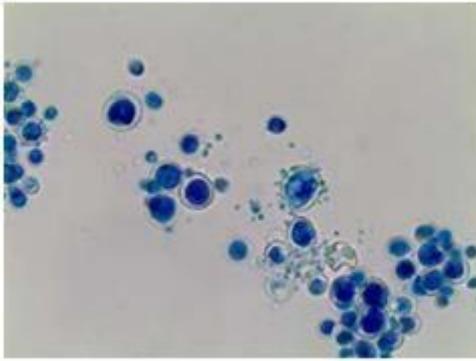


Figura 13. Paracoccidioidomicose. Leveduras arredondadas com múltipla gemulação e duplo contorno corados em azul algodão.

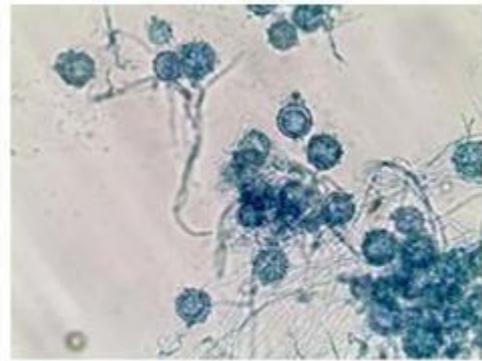


Figura 14. Micromorfologia apresentando hifas hialinas septadas, microconídios e macroconídios mamilonados em azul algodão.

Microcultivo ou Cultivo em Lâminas

Fundamenta-se no cultivo do fungo entre lâmina e lamínula proporcionando a preservação e observação de detalhes das estruturas microscópicas necessárias para a identificação de alguns gêneros ou espécies de fungos.

Material

- Agar Sabouraud ou Agar batata
- Lâmina de vidro
- Lamínula
- Placa de Petri
- Papel de filtro
- Palitos ou suporte de vidro

Técnica

- a. Trabalhar preferencialmente em cabine de fluxo laminar.
- b. Recortar um papel de filtro e forrar uma placa de Petri estéril.
- c. Cortar um pequeno bloco de Agar Sabouraud com aproximadamente 10 mm x10 mm com lâmina ou alça bacteriológica esterilizada,
- d. Depositar o bloco de Agar recortado sobre uma lâmina esterilizada.
- e. Colocar a lâmina com o Agar dentro da placa de Petri preparada com o papel de filtro, apoiando-se sobre dois palitos ou outro suporte esterilizado, evitando que ela fique em contato direto com o papel umedecido.
- f. Com uma alça bacteriológica esterilizada, remover pequenas porções da colônia do fungo que se deseja estudar e inoculá-los nas bordas dos quatro quadrantes do bloco de Agar. Cobrir com lamínula.
- g. Tampar a placa de Petri, identificar e incubar a montagem à temperatura ambiente.
- h. Quando o crescimento for suficiente após o período de incubação em que os fungos utilizarão os nutrientes contidos no meio de cultura, formarão as estruturas de reprodução (após 48 horas), na lâmina e lamínula observadas ao microscópio em aumentos de 100 e 400 X. Pode-se corar pelo lactofenol azul-algodão para facilitar a visualização. Figura 15.

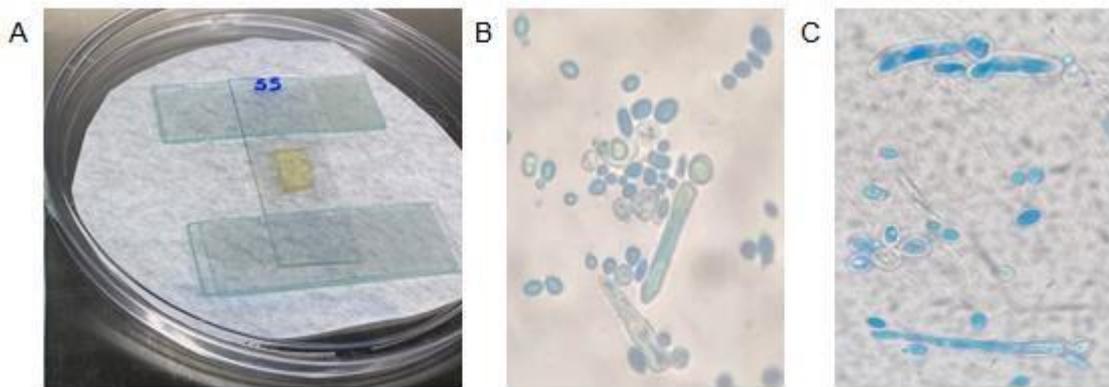


Figura 15. Identificação de fungos por microcultivo (A-C). A. Procedimento da técnica do Microcultivo. B e C. Microcultivo de *Candida albicans* em Agar Fubá apresentando clamidoconídios.

Interpretação

Vide interpretação do item anterior 4.2.

Pesquisa de Tubo Germinativo

Fundamenta-se na observação microscópica das células leveduriformes em soro humano a 37°C após 2 horas, a fim de constatar a presença de tubo germinativo, estrutura reprodutiva característica da espécie *Candida albicans*. Figura 16.

Material

- Tubo estéril
- Suporte (estante)
- Soro humano
- Colônia do fungo

Técnica

- Trabalhar preferencialmente em cabine de fluxo laminar.
- Colocar aproximadamente 0,5 ml de soro humano no tubo.
- Com o auxílio de alça bacteriológica estéril, remover pequena porção da colônia de levedura e transferi-la para o tubo com soro, fazendo uma suspensão homogênea.
- Incubar o tubo a 35 - 37 °C por 2 horas.
- Examinar ao microscópio, uma gota da suspensão, visualizando a estrutura da imagem.

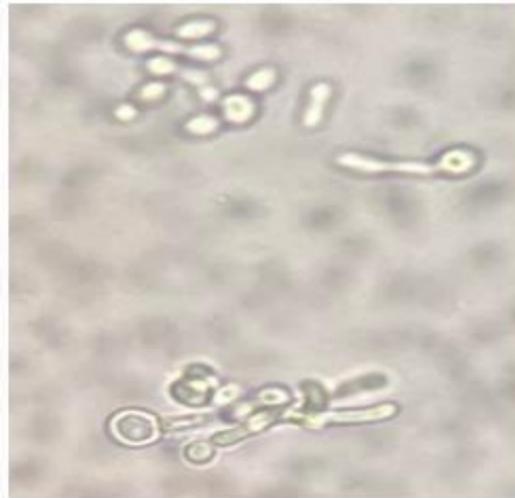


Figura 16– Tubo Germinativo de *Candida albicans* em soro humano, após incubação por 2 horas a 37° C

Interpretação

Entre as várias espécies de gênero *Candida*, somente a *Candida albicans* é capaz de produzir tubo germinativo em presença de soro a 37°C em 2 horas de incubação.

Identificação de *Candida* spp em Agar Cromogênico

As colônias de leveduras do gênero *Candida* podem ser inoculadas em Ágar Cromogênico *Candida* (Mbiolog ou outro fabricante) para identificação presuntiva das espécies, especialmente da espécie *C. albicans*. Figura 20.

5 ANEXOS

Anexo 1: Chave de identificação dos fungos/Figuras 17,18 e 19.

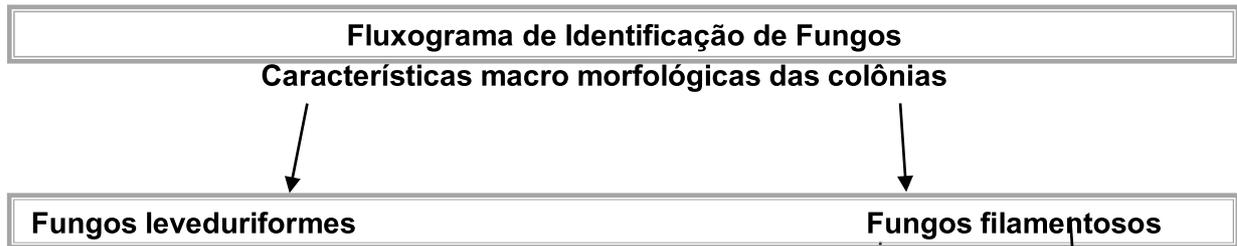
6 REFERÊNCIAS

Koneman, Elmer W., and Glenn D. Roberts. *Practical laboratory mycology*. No. Ed. 3. Williams & Wilkins, 1985.

Imagens próprias ou dos atlas de micologia disponíveis no site da Controlab no endereço: <https://so.controlab.com> da SBPC.

https://www.saude.go.gov.br/images/imagens_migradas/upload/arquivos/2017-02/modulo-8---deteccao-e-identificacao-de-fungos-de-importancia-medica.pdf

Anexo 1: Chave de identificação dos fungos:



- Crescimento em Agar Sabouraud
- Crescimento em Agar Mycosel
- Agar Cromogênico Candida Dermatófitos Não dermatófitos
- Microcultivo Ágar Fubá Gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum*, Hifas Hialinas septadas
- Tubo Germinativo *Epidermophyton*, *Nannizzia*(*Microsporum*) Fungos Demáceos
- Tinta Nanquim

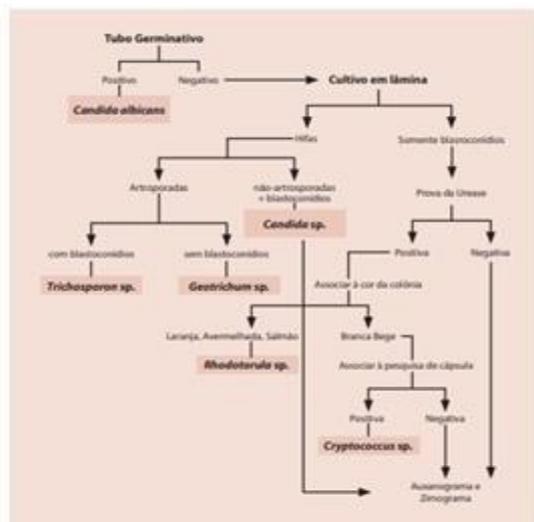


Figura 17: Identificação de leveduras. <https://www.saude.go.gov.br/>

Características Genéricas dos Macroconídios (Closterosporos)

	<i>Trichophyton</i>	<i>Microsporum</i>	<i>Epidermophyton</i>
Freqüência	Geralmente raros	Muito numerosos, exceto em <i>M. audouinii</i>	Numerosos
Tamanho	20-50 µm por 4-6 µm	5-100 µm por 3-8 µm	20-40 µm por 6-8 µm
Septos	2 a 8	3 a 15	2 a 4
Espessura da parede	Delgada	Esposa, exceto: <i>M. gypseum</i> , <i>M. nanum</i>	Indeterminada
Superfície da parede	Lisa	Rugosa	Lisa
Modo de ligação da hifa	Simple	Simple	Em grupos de 2 a 4
Tendência da Forma	Cilindroide, chouriço, claviforme, alongada	Naveta, fusiforme	Claviforme curta

Figura 18: Identificação de dermatófitos.

Micoses	Exame direto ou Histopatológico (TTPP)	µm	Cultura (CA)
Criptococose		15 a 25	
Paracoccidioidomycose		5 a 30	
Histoplasmose		3 a 5	
Esporotricose		5 a 7	

Figura 19: Micromorfologia dos principais fungos de importância clínica.

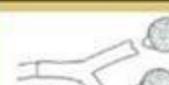
Micoses	Exame direto ou Histopatológico (TTPP)	µm	Cultura (CA)
Micetoma Actinomicótico		grânulos 2 mm	
Micetoma Eumicótico		grânulos 2 mm	
Zigomicose Sistêmica		micélio não septado 5 a 6	
Zigomicose subcutânea		micélio septado 5 a 6	
Hialoifomicose (Aspergilose)		micélio septado hialino 3 a 5	
Fcoifomicose		micélio septado castanho 3 a 5	

Figura 19: Micromorfologia dos principais fungos de importância clínica.

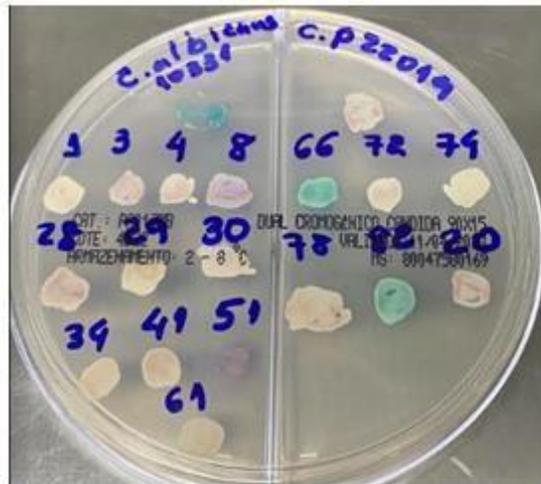
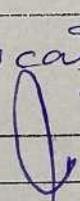
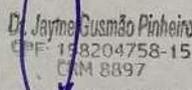


Figura 20. Agar Cromogênico *Candida C. albicans* ATCC 10331 (colônia verde) e *C. parapsilosis* 22019 (colônia rosa) e testes de pacientes.

ANEXO 03

	LNT GLOBAL Levantamento das Necessidades de Treinamento	Ano: 2022
		Data: 31/10/22
Neste impresso você registrará quais treinamentos serão importantes para melhorar o desempenho do seu setor.		
1) Setor Solicitante: MICROBIOLOGIA		Responsável: Gislaine
2) Nome dos eventos: treinamento(s), curso(s), seminário(s), palestra(s), etc. Radionização na Coleta de amostras para exames micrológicos.		
3) Objetivo propostos:		
<input checked="" type="checkbox"/> Qualificar o colaborador para exercer novas atividades <input checked="" type="checkbox"/> Absorver inovações tecnológicas <input checked="" type="checkbox"/> Revisar/implantar (documentos setoriais) <input checked="" type="checkbox"/> Reciclar - atualizar os conhecimentos da função desempenhada		
4) Quais as habilidades ou conhecimentos pretende suprir com a realização do treinamento solicitado? Técnicas de coleta de amostras micrológicas, identificação, transporte, cultivo de amostras.		
5) Quais colaboradores serão indicados? Colaboradores da coleta de amostras microbiológicas de todas as unidades e do setor de microbiologia.		
6) Assinatura do Resp. Setor: Gislaine		Coordenador Setorial: 
Data da Solicitação: 31/10/22		
Parecer da RH e Qualidade: <input checked="" type="checkbox"/> Aprovado <input type="checkbox"/> Não- aprovado		Aprovação Final:  Assinatura da Diretoria: _____ Data da análise: 01/11/22
Forma de avaliação da eficácia: Análise após coleta e envio para setor de Microbiologia durante e após a pesquisa. Resultado: Eficaz. Avaliador: Gislaine Data: 30/05/23		

LISTA DE PRESENÇA REGISTRO DE TREINAMENTO INTERNO

Tema/Assunto/Nome do Documento: Padronização para coleta de amostras para exames micológicos

Data: 02 e 03/11/22 Carga horária: 2 horas

Objetivo:
Melhorar a coleta, transporte das amostras, registro de informações pertinentes, uso do questionário e abordagem do paciente no preenchimento dos termos de consentimento para participação na pesquisa relacionadas aos exames micológicos.

Instrutor(es): Gislane Tolentino Saraiva e Alvarenga

Nº	Nome dos Participantes	Setor/Unidade	Rúbrica
01	Barbara Isabella Bicalho Marques	Micologia	[Assinatura]
02	Charlana Gomes Lopes	micobiologia	[Assinatura]
03	Idine dos Santos Gomes	micobiologia	[Assinatura]
04	Gislane Pereira Lopes Veloso	micobiologia	[Assinatura]
05	Patriz Aparecida Gomes P. Aguiar	Micobiologia	[Assinatura]
06	Eyerson Miquilim Soares de Souza	micobiologia	[Assinatura]
07	Fernando Pereira dos S. A.		
08			
09			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			

Unidade Janaúba



LISTA DE PRESENÇA REGISTRO DE TREINAMENTO INTERNO

UNIDADE JANAÚBA

Tema/Assunto/Nome do Documento: TREINAMENTO ONLINE COLETA MICOLÓGICO (FUNGOS)

Data: 07/12/2022

Carga horária: 2 HORAS

Objetivo: PADRONIZAÇÃO DAS COLETAS MICOLÓGICAS ATRAVÉS DO APERFEIÇOAMENTO DOS PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO.

DISCUTIR AS CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS FUNGOS, TIPOS DE MICOSE, PRINCIPAIS LOCAIS DE COLETA, ORIENTAÇÕES E PROTOCOLOS A SEREM SEGUIDOS, DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS E SÍTIOS COLETADOS NA FICHA DE BANCADA, TRANSPORTE DA AMOSTRA BIOLÓGICA, USO DOS INSTRUMENTOS DE COLETA E ESTERILIZAÇÃO DOS MESMOS.

Instrutora: Dra. Gislaíne Tolentino Saraiva Alvarenga (Farmacêutica Responsável pelo Setor Microbiologia)

Nº	Nome dos Participantes	Setor/Unidade	Rúbrica
01	Luiz Veloso Aquino	Biomedico / janaúba	[assinatura]
02	Germana Barbosa de Souza	coletadora / janaúba	[assinatura]
03	Salmo Siqueira Correia do Silva	coletadora / janaúba	[assinatura]
04			
05			
06			
07			
08			
09			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			

PLANILHA DE REGISTRO DE CONTROLE COMPARATIVO INTERNO
 Analito: Microbiologia Soro

SGQ		Setor: <u>micor</u>				
Data: <u>03/01/2013</u>		Registro do paciente: <u>01.56640</u>				
Parâmetro	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 4	Referencia	Resultado Liberado
/	(+) Pos.	(+) Pos.	(+) Pos.		obs: ↓	Positivo
	blasbc. em cachos.	blasbc. em cachos	blasbc. em cachos			Pos. blastocísticas em cachos neg. Malassezia furva.
Assinatura	<u>un</u>	<u>af</u>	<u>le</u>			Aprovado/Gustave
Aprovação	A/G	A/G	A/G			

Data: <u>09/01/2013</u>		Registro do paciente: <u>24.043014</u>				
Parâmetro	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 4	Referencia	Resultado Liberado
/	(+) Raros FMSR	(+) Raros FMSR	(+) Raros FMSR		obs: ↓	Positivo
						Raros filamentos micelíneos septados e ramificados.
Assinatura	<u>un</u>	<u>af</u>	<u>le</u>			A/Gustave
Aprovação	A/G	A/G	A/G			

Data: <u>04/03/2013</u>		Registro do paciente: <u>16.115568</u>				
Parâmetro	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 4	Referencia	Resultado Liberado
/	Neg	Neg	Neg		obs: ↓	Neg
Assinatura	<u>un</u>	<u>af</u>	<u>le</u>			aprovado/G.
Aprovação	A/G	A/G	A/G			

Data: <u>12/04/2013</u>		Registro do paciente: <u>03.182142</u>				
Parâmetro	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 4	Referencia	Resultado Liberado
/	(+) Raros Cond	(+) Raros Cond	(+) Raros Cond		obs: ↓	Positivo
						Raros estruturas q. brot. Candida
Assinatura	<u>un</u>	<u>af</u>	<u>le</u>			A/Gustave
Aprovação	A/G	A/G	A/G			

() Percentual ou número absoluto de diferenças entre resultados
 () Concordância de +/- dois títulos
 Concordância de +/- um grau (+)
 Concordância de positividade ou negatividade
 () Concordância de interpretação clínica
 Cem por cento de concordância nos elementos que definem diagnóstico

Ocorrência:

Causa Provável:

Ação Tomada:

Resultado após tomada da ação:

Aprovado:

- ① Destine
- ② Inocule
- ③ examine

Relatório de Avaliação - Proficiência Clínica

Participante 857
 Módulo Micologia
 Rodada Esp/2022

Página 1 / 1
 Emissão 26/12/2022



Ensaio	Relatório de Avaliação					Relatório Cumulativo				
	Item	GA	Resultado(s) Aceitos(s)	Resultado do Participante	Aval.	Rodada				%A
						Nov/2021	Fev/2022	Mai/2022	Ago/2022	
Sistema Analítico										
Identificação por imagem	MI01	08	Complexo Sporothrix schenckii Sporothrix sp.	Complexo Sporothrix schenckii	2A	4A 1NA21	5A 1I	6A (*)	6A	95
	MI02	08	Aspergillus fumigatus Aspergillus sp.	Aspergillus fumigatus	2A					
	MI03	08	Exophiala sp. Exophiala werneckii Hortae werneckii/Exophiala werneckii Phaeoanellomyces sp. Phaeoanellomyces werneckii	Phaeoanellomyces werneckii	2A					

O Perfil de Resultados complementa o Relatório de Avaliação.

A Adequado
 I Inadequado
 NR Não realizado

NR*/A*/I* Sem efeito para o %A
 EDU Ensaio oferecido por educação
 NPJ Não participação justificada

(*) Resultado da rodada especial
 NA02 Não avaliado por atraso no reporte dos resultados
 NA08 Não avaliado por decisão do Grupo Assessor

NA10 Não avaliado por não formação de grupo ou por comportamento atípico
 NA12 Não avaliado por sistema analítico não identificado ou impróprio

NA21 Soma de NA08, NA10 e NPJ
 NA22 Soma de NA02 e NA12
 ** Dado normalizado

Relatório de Avaliação - Proficiência Clínica

Participante 857
 Módulo Micologia
 Rodada Ago/2023

Página 1 / 1
 Emissão 26/09/2023



Ensaio	Relatório de Avaliação					Relatório Cumulativo				
	Item	GA	Resultado(s) Aceitos(s)	Resultado do Participante	Aval.	Rodada				%A
						Nov/2022	Fev/2023	Mai/2023	Ago/2023	
Sistema Analítico										
Identificação	MI01	08	Candida sp. Candida tropicalis	Candida sp.	2A	4A 1NA21	4A 2NR	6A	6A	91
	MI02	08	Curvularia lunata Curvularia sp.	Curvularia sp.	2A					
	MI03	08	Aspergillus fumigatus Aspergillus sp.	Aspergillus sp.	2A					

Ensaio não reportados durante o ano cumulativo

Teste de Sensibilidade

O Perfil de Resultados complementa o Relatório de Avaliação.

A Adequado
 I Inadequado
 NR Não realizado

NR*/A*/I* Sem efeito para o %A
 EDU Ensaio oferecido por educação
 NPJ Não participação justificada

(*) Resultado da rodada especial
 NA02 Não avaliado por atraso no reporte dos resultados
 NA08 Não avaliado por decisão do Grupo Assessor

NA10 Não avaliado por não formação de grupo ou por comportamento atípico
 NA12 Não avaliado por sistema analítico não identificado ou impróprio

NA21 Soma de NA08, NA10 e NPJ
 NA22 Soma de NA02 e NA12
 ** Dado normalizado

Relatório de Avaliação - Proficiência Clínica

Participante 857